

Hampaan kiilteen mikrokuluminen vulkaanisen tuhkan vaikutuksesta ja sen merkitys hypsodontian evoluutioon

Pro gradu –tutkielma

Milena Hauhia

Geotieteiden ja
maantieteen laitos

Matemaattis-
luonnontieteellinen
tiedekunta

Helsingin yliopisto

Joulukuu 2019

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	5
1.1. NISÄKKÄÄN HAMPAAT JA NIIDEN KULUMINEN.....	6
1.2 HYPSONDONTIA	8
2. TEORIAA.....	11
3. MATERIAALIT.....	15
4. MENETELMÄT	19
4.1 HAMPAIDEN PREPAROINTI.....	19
4.2 MEKAANINEN PURULAITE.....	21
4.3 HAMPAAN OKKLUUSIOPINNAN MIKROKULUMISEN ANALYSOINTI	23
5. TULOKSET	24
6. TULOSTEN TARKASTELU.....	41
7. JOHTOPÄÄTÖKSET	48
8. KIITOKSET	49
9. LÄHDELUETTELO.....	50

1. JOHDANTO

Kasvinsyöjänisäkkäiden hampaiden evoluutio on ollut paleoekologisen tutkimuksen kohteena jo vuosikymmenien ajan. Hampaiden koko, muoto ja kulumisjäljet kertovat paljon sekä eläimen ruokavaliosta, että sen elinympäristöstä (Hillson, 2005). Hypsodonttien eli korkeakruunuisten hampaiden kehittyminen on aikaisemmissa tutkimuksissa usein liitetty heinäkavien evoluutioon ja metsiä avoimempien sekä kuivempien ympäristöjen yleistymiseen (Mihlbachler et al. 2011). Heinien varhaisin esiintyminen on tutkimusten mukaan tapahtunut paleogeenisellä ajanjaksolla (65,5 – 23,03Ma), jolloin ilmastovaihtelut aiheuttivat kuivien heinäarojen leviämisen metsien kustannuksella (Strömberg, 2013). Heinät sisältävät mikroskooppisia, kovia mineraalipartikkeleita, fytoliitteja, jotka aiheuttavat abraasiota eli kuluttavat hampaan kiillepintaa (Walker et al. 1978). Matalia heinäkavveja syövien kasvinsyöjänisäkkäiden ruokavalioon siirtyy kasvien mukana myös pölyä, hiekkaa ja muuta mineraaliainesta, joka myös kuluttaa hammasta (mm. Jardine et al. 2012). Kyseisissä ympäristöissä elävien eläinten oli sopeuduttava muuttuviin olosuhteisiin ja abraasion lisääntyessä hammaskruunu piteni vastustaen hampaan kulumisesta aiheutuvaa eläimen eliniän lyhenemisestä (Jernvall & Fortelius, 2002).

Janina Rannikko on tehnyt pro gradu-tutkielmaansa varten kokeellisen hampaiden kulumistutkimuksen Helsingin yliopistossa rakennetulla (Karme et al. 2012) purulaitteella käyttäen modernin hevosen (*Equus caballus*) hampaita. Tutkimuksessaan hän esittelee tuloksiaan muun muassa siitä, miten fytoliitteja sisältävä heinä ja niitä vähemmän sisältävä sinimailanen, sekä niiden seassa esiintyvä hiekka kuluttavat hampaan kiillepintaa sekä minkälaista mikrokulumisjälkeä ne aiheuttavat. Rannikon tutkimuksen mukaan jokainen edellä mainituista kuluttaa hammasta, mutta heinä, jonka seassa on hiekkaa aiheuttaa voimakkaimman kulutuksen. Uusimmissa tutkimuksissa onkin arvioitu, että hiekalla, pölyllä, sekä muulla ulkoisella kasviruokavalion seassa esiintyvällä mineraaliaineeksella saattaisi olla suurempi merkitys hypsodontian kehittymiseen kuin heinien sisärakenteiden fytoliiteilla. Eräs tällainen merkittävä mineraaliaine on mm. Chicagon yliopiston biologian ja anatomian professorin, Richard H. Maddenin mukaan vulkaaninen tuhka. Madden on tutkinut nisäkkäiden hampaiden kulumista kuivissa, vuoristoisissa ja vulkaanisissa elinympäristöissä, kuten Etelä-Amerikassa. Hän uskoo, että vulkaanisella aktiivisuudella ja pyroklastisilla sedimenttikerrostumilla on yhteys kasvinsyöjänisäkkäiden hypsodontian kehittymiseen. Jopa

26:lle eri monofyleettiselle ryhmälle nisäkkäitä on kehittynyt korkeakruunuiset hampaat Etelä-Amerikassa. Lähes puolelle näistä ryhmistä on edelleen kehittynyt elodonttiset eli jatkuvasti kasvavat hampaat. Tämä kertoo ympäristötekijästä, jolla on ollut suuri vaikutus eläinten sopeutumiseen hampaita kuluttaviin elinolosuhteisiin.

Tässä pro gradu-tutkielmassani tein samankaltaisen kokeellisen tutkimuksen Rannikon käyttämällä purulaitteella. Tutkimuksessani käytin myös modernin hevosen hampaita ja tarkoituksenani oli tutkia, minkälaista mikroskooppista kulumista ruokavalion seassa syötävä vulkaaninen tuhka hampaissa aiheuttaa ja pohtia sen evolutiivista merkitystä hypsodontian kehittymiselle. Kokeessa käytetyistä hampaista ja tuhkasta kerron enemmän Materiaalit-osiossa.

1.1. Nisäkkään hampaat ja niiden kuluminen

Nisäkkään hampaat voidaan yleensä jakaa neljään luokkaan; etuhampaat, kulmahampaat, väliposkihampaat ja poskihampaat, sekä edelleen pysyviin hampaisiin ja niitä edeltäviin väistyviin maitohampaisiin (Hillson, 2005). Hampaiden muoto vaihtelee suuresti lajien välillä ja sen perusteella voidaan määrittää esimerkiksi kyseessä olevan eläimen ruokavalio (esim. Lucas, 2004). Lihansyöjillä ja hyönteissyöjillä on yleensä tribosfeeniset eli kolmiomaiset leikkaavan pinnan muodostavat hampaat kun puolestaan kasvinsyöjien hampaiden purupinnat saattavat olla hyvinkin monimuotoisia ja moninystermäisiä riippuen niiden ruokavaliosta (Jernvall & Eronen, 2009).

Nisäkkään hammas koostuu suuhun työntyvistä osasta eli hammaskruunusta sekä leukaluuhun kiinnittyneestä juuriosasta. Hampaassa on kolme erilaista kerrosta, kiille, sementti ja hammasluu eli dentiini. Hermoja ja verisuonia sisältävä pulpa eli hammasydin sijaitsee hampaan ydinontelossa ja juurikanavassa. Hammas pysyy paikoillaan leukaluussa juurien ja periodontaalisen ligamentin avulla (Hillson, 2005).

Hammasta kulutukselta suojaava kova kiille koostuu suurimmaksi osaksi (yli 96%) epäorgaanisesta aineesta, hydroksiapatiitista, joka kuuluu fosfaattimineraalien ryhmään. Orgaanista ainesta kiille sisältää noin yhden prosentin ja loput on vettä. Kovuutensa ansiosta kiille säilyy hyvin fossiiliaineistossa ja sen ominaisuuksia tutkimalla voidaan tehdä esimerkiksi laji-, ja ikämäärytyksiä.

Hammasluu eli dentiini koostuu suurimmaksi osaksi epäorgaanisesta apatiitista (n.70%), kollageenista ja pienestä määrästä orgaanista ainesta. Kollageeni on säiemäinen rakenneproteiini, joka muodostaa tärkeitä aminohappoja sekä antaa hampaalle lujuutta ja kestävyyttä. Eläimen kuollessa kollageenin määrä hammasluussa vähenee vaiheittain ja hampaasta tulee alttiimpi hajoamiselle.

Sementti toimii kiinnitysalustana periodontaaliselle ligamentille, joka pitää hampaan paikoillaan leukaluussa. Sen paksuus vaihtelee paljon lajien välillä. Sementti koostuu pääosin (n. 70 %) epäorgaanisesta aineesta, kollageenista ja orgaanisesta aineesta. Sementin säilyvyys vaihtelee samoin kuin dentiinin, orgaanisen aineksen määrän pienentyessä (Lucas, 2004).

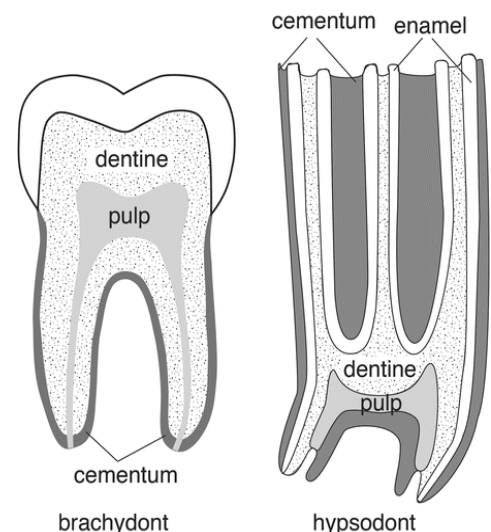
Kasvinsyöjänisäkkäät pureskelevat ruokaansa pilkkoakseen kuituisen kasviravintonsa soluseinien selluloosaa, jolloin se on helpommin sulatettavissa ruoansulatuskanavassa. (Jernvall & Eronen, 2009). Pureskelussa alaleuka kohtaa yläleuan edestakaisessa sivulta sivulle,- ja/tai edestä taakse-suuntautuvassa liikkeessä, jota ohjailevat vahvat puremalihakset sekä leukanivel (Hillson, 2005). Leukanivel muodostuu alaleukaluun nivelhaarakkeen ja ohimoluun leukanivelkuopan välille (Ayar et al. 2018). Tärkeimmät alaleukaa liikuttavat lihakset ovat ohimolihas, ulompi puremalihakset ja ulompi sekä sisempi siipilihas (Lucas, 2004). Tässä pro gradu-tutkielmassani edestakaista purentaliikettä on jäljitelty mekaanisella purulaitteella, jossa hampaiden purupinnat osuvat toisiinsa ja liukuvat toistensa ohi jatkuvassa liikkeessä. Purulaitteesta ja sen toiminnasta kerrotaan lisää Menetelmät-osiossa.

Heti hampaiden puhkeamisen jälkeen ne altistuvat kulumiselle. Kulumista aiheuttavat attritio, jossa hammas osuu hammasta vasten sekä abraasio, jossa ruokapartikkelit ja muu mineraaliaines kuluttavat hammasta. Kiilteen mikroskooppisen kulumisen on tutkittu olevan tärkein hampaan kulumista aiheuttava voima (Fortelius, 1985) mutta myös muut tekijät, kuten ruuan seassa olevat hapot liuottavat hammaskudosta (mm. Flueck et al. 2013). Kulumisen näkyy selvimmin hampaan okluusiopinnalla eli purupinnalla. Sitä voidaan tarkastella silmämääräisesti (mesowear) tai mikroskooppitasolla (microwear). Tässä pro gradussa käsitellään suurimmaksi osaksi mikroskooppisia kulumisjälkiä ja niiden aiheuttajia. Fytoliitteja sisältävä kasviruokavalio aiheuttaa hampaan kiilteeseen suurimmaksi osaksi naarmuja ja hiekkaiset ruokavaliot synnyttävät enemmän kuoppaisia jälkiä kuin hiekattomat ruokavaliot (mm. Walker et al. 1978). Tutkijoiden keskuudessa on erimielisyyksiä siitä, onko kasvien sisä rakenteiden fytoliiteilla suurempi merkitys hampaan kulumisessa kuin ulkoisella

mineraaliaineksella kuten hiekalla, pölyllä tai esimerkiksi vulkaanisella tuhalla. Janina Rannikon pro gradun tuloksien mukaan sekä kasviruuan sisäiset että ulkoiset tekijät, kuten hiekka, aiheuttavat kiilteen mikrokulumista. Kulumista tarkasteltiin myös tietokonetomografian avulla, jonka avulla voidaan laskea absoluuttista kulumista. Rannikon tuloksien mukaan hiekkaiset ruokavaliot kuluttivat hammasta eniten ja vähän fytoliitteja sisältävät vähiten. Tässä pro gradussa tarkasteluun otettiin mukaan ulkoisena mineraaliaineksena vulkaaninen tuhka ja sen mahdollinen vaikutus hypsodontian kehittymiseen.

1.2 Hypsodontia

Hypsodonttisista hampaista puhuttaessa viitataan yleensä poskihampaisiin ja väliposkihampaisiin, joiden kruunut ovat pidentyneet. Osa hammaskruunusta on leukaluun sisällä ja puhkeaa sitä mukaa kun hampaan purupinta kuluu. Brachyodontiset eli lyhytkruunuiset hampaat ovat puolestaan kokonaan puhjenneina ja näkyvillä suussa, kuten aikuisella ihmisellä. (Damuth & Janis, 2011). Hypsodontiasta puhuttaessa käytetään usein hypsodontiaindeksiä (Hypsodonty index, HI) (Janis, 1988), jossa korkeusindeksi lasketaan jakamalla poskihampaan kruunun pituus purupinnan leveydellä. Jos indeksiksi saadaan 3.5 – 5.0 hampaat ovat hypsodontiset ja brachyodontisten hampaiden indeksin on oltava alle 1.7. Mesodontiset hampaat ovat tältä väliltä. Hypsodontiset hampaat vastustavat kulumista myös paksun kiillekerroksen sekä monimuotoisten purupintaratkaisujen ansiosta (Lucas, 2004). Hypsodontiaa esiintyy kaiken kokoisilla nisäkkäillä. Fossiiliaineiston mukaan ensimmäiset hypsodontiset hampaat on löydetty Gondwanatheria-nimisiltä pieniltä, jo sukupuuttoon kuolleilta nisäkkäiltä Etelä-Amerikasta paleoseenin (66-56 Ma) alkupuolelta (Koenigswald et al. 1999). Kaviokyntisten, kuten katio-, ja sorkkaeläinten keskuudessa hypsodontia on yleistynyt mioseenilla (23-5Ma), johon yhdistetään myös ruohostomaiden leviäminen (Hummel et al. 2010). Kuitenkin ensimmäisiä todisteita kaviokyntisten korkeakruunuisista hampaista on löydetty jo paleogeenilta



(66-23Ma), jolloin heinäkasvit eivät olleet vielä ehtineet vallata suuria alueita (Madden, 2015). Tämä on yksi syy siihen, miksi ruuan ulkopuolisilla mineraalipartikkeleilla uskotaan olevan suurempi merkitys hypsodontian kehittymiselle ilmaston viilenemisen ja kuivumisen seurauksena.

Maapallo alkoi viiletä kenotsooisien maailmankauden aikana oligoseenilla noin 30 miljoonaa vuotta sitten. Syitä tähän olivat muun muassa Tiibetin ylängön, varsinkin Himalajan vuoriston synty sekä Antarktisen irtoaminen Etelä-Amerikan ja Australian mantereesta. Tiibetin korkeiden ja jyrkkien vuoristojen erodoituessa kemialliseen rapautumiseen kului runsaasti ilmakehän hiilidioksidia mikä osaltaan kiihdytti ilmaston kylmenemistä kasvihuoneilmiön heikentyessä. Yläköalueen vuorten keskikorkeus oli viisi kilometriä, mikä riitti muuttamaan subtrooppisten suihkuvirtausten suuntaa ja korkeutta. Tämä puolestaan kasvatti monsuunisateiden voimakkuutta vuorten eteläpuolella ja mantereen kuivumista niiden pohjoispuolella. Antarktisen irrotessa Etelä-Amerikasta ja Australiasta sekä tästä johtuva Tasmanian portin ja Draken salmen syntyminen päästi kylmän merivirran pyörimään Etelämantereen ympärille. Tämä ja sijainti napa-alueella aiheuttivat lopulta mantereen jäätiköitymisen ja albedon kasvaessa ilman hiilidioksidipitoisuus väheni entisestään ja vaikutti globaalisti ilmaston viilenemiseen (Raymo & Ruddiman, 1992).

Ilmaston viiletyessä metsäala pirstaloitui ja ruohostomaat yleistyivät. Tämän seurauksena monet suuret kasvinsyöjänisäkkäät muuttuivat korkean kasvillisuuden, kuten puiden lehvästön syöjistä matalamman kasvillisuuden, kuten heinien syöjiksi (Damuth & Janis, 2011). Puiden lehdet ovat pehmeämpää ja vähemmän hampaita kuluttavampaa ravintoa kuin kuituiset, paljon fytoliitteja sisältävät heinäkasvit (mm. Solounias et al. 1988). Matalan kasvillisuuden seassa on myös enemmän ulkoista mineraaliainesta kuten hiekkaa ja pölyä, jotka lisäävät kuluttavien partikkeleiden määrää. Hypsodontia on siis todennäköisesti evolutiivinen ratkaisu avoimempien ja kuivempien elinympäristöjen kasvinsyöjille.

Etelä-Amerikka on merkittävä alue kun tutkitaan hypsodontian kehittymistä (Cassini et al. 2017). Siellä monien eri lajien hampaat ovat kehittyneet itsenäisesti konvergenttisessä evoluutiossa korkeakruunuisiksi ympäristön valintapaineiden alla (Madden, 2015). Hypsodontian kehittyminen Etelä-Amerikassa yhdistetään usein eoseenin ja oligoseenin rajavyöhykkeelle noin 34 miljoonaa vuotta sitten (EOT = Eocene-Oligocene Transition), jolloin Etelämanter alkoi jäätyä, mikä edelleen vaikutti koko maapallon viilenemiseen. Tuona aikana esimerkiksi jyrsijöiden hammaskruunun piteneminen korreloi hyvin ilmaston

muutoksen, kuten keskilämpötilan laskemisen, kylmimmän kuukauden keskilämpötilan nousemisen sekä vuotuisen sademäärän pienenemisen kanssa (Madden, 2015).

Etelä-Amerikan mantereen länsipuolta reunustaa Andien vuoristo, joka on syntynyt Tyynenmeren ja Etelä-Amerikan litosfäärilaattojen törmäyskohtaan. Alueella on tästä johtuen myös voimakasta vulkanismia ja eroosiota. Ilmaston muuttuessa ja avoimien ruohostomaiden levitessä, kasvinsyöjät altistuivat täten myös ruuan seassa olevalle vulkaaniselle tuhkalle. Muun muassa tämä sekä se, että hypsodontiaa esiintyi Etelä-Amerikassa jo ennen ruohostomaiden yleistymistä sekä se, että Pohjois-Amerikasta Etelä-Amerikkaan Panaman kanavan kautta tulleille brachyodonttisille nisäkkäille kehittyi korkeakruunuiset hampaat ennen heinien evoluutiota, puoltavat hypoteesia, jonka mukaan jatkuva vulkanismi ja tuhkan vapautuminen sedimenteistä eroosion sekä muiden maanpinnan prosessien tuloksena, voisi olla yksi merkittävistä evoluutiovoimista hypsodontian kehittymiselle (Strömberg et al, 2013). Tässä gradussa tein tutkimuksen, jossa kokeellisesti testeattiin mekaanisen purulaitteen avulla vulkaanisen tuhkan vaikutusta hampaan kiilteen kulumiseen ja mikrokulumiskuvioon. Tuloksia on havainnollistettu kaavioin Tulokset-osiossa ja niitä tarkastellaan lähemmin Tulosten tarkastelu-osiossa, jossa myös pohditaan vastauksia tutkimuskysymyksiin :

1. Aiheuttaako vulkaaninen tuhka hampaan kiilteen kulumista?
2. Minkälaista mikrokulumiskuviota vulkaaninen tuhka kiilteen pintaan aiheuttaa?
3. Vaikuttaako ruokaseoksessa olevan vulkaanisen tuhkan määrän lisääminen mikroskooppiseen kulumisjälkeen?
4. Voisiko vulkaanisella tuhalla olla evolutiivista merkitystä hypsodontian kehittymisessä?

2. TEORIAA

Hypsodontian evoluutiota ja siihen vaikuttavia tekijöitä on tutkittu paljon. Osa tutkimuksista puoltaa käsitystä, että kenotsooisen maailmankauden aikana tapahtunut ilmaston viileneminen ja kuivuminen sekä avoimempien ruohostomaiden leviäminen olisi tärkein syy hypsodontian kehittymiselle. Hammaskruunun pitenemisen evoluutiota on tutkittu muun muassa hevoseläinten fossiilisista, kuten myös moderneista hampaista. Mihlbachler et al. (2011) ovat tutkineet ympäristön vaikutuksesta tapahtuvaa hammaskruunun pitenemistä juuri hevoseläimillä. Heidän tutkimuksessaan on vertailtu Pohjois-Amerikan hevoseläinten (Equidae) fossiilisia hampaita viimeisten 55,5 miljoonan vuoden ajalta mesowear-menetelmän avulla. Mesowear-menetelmässä hampaat jaetaan niiden purupintojen nystermien terävyyden ja niiden välisten pintojen syvyyden vaihteluiden mukaan brachydonttisiksi, mesodonttisiksi tai hypsodonttisiksi (Fortelius & Solounias, 2000) ja sen mukaan eläin voidaan määrittää joko ruohon syöjäksi, lehtevän kasvillisuuden syöjäksi tai sekasyöjäksi. Varhaisimmilla hevoseläimillä oli brachydonttiset eli lyhytkruunuiset poskihampaat, joissa ei juurikaan ollut leikkaavia pintoja. Tämä viittasi paljon hedelmiä sisältävään ruokavalioon. Eoseenin (noin 56-34Ma) ja oligoseenin (noin 34-24Ma) aikana edelleen brachydonttisiin poskihampaisiin alkoi muodostua leikkaavia pintoja, mikä puolestaan viittasi siihen, että hevoseläimet alkoivat syödä sitkeämpää ja kuituisempaa ravintoa, kuten puiden lehvästöä. Mioseenilla hevosten hammaskruunun pituus alkoi kasvaa, purupinnat monimutkaistuivat ja sementtikerros paksuuntui. Tämä kertoi vielä kuluttavammasta ruokavaliosta, kuten heinäkasveista ja niiden mukana tulevasta ulkoisesta maa-aineksesta. Ruohostomaat valtasivat alaa Pohjois-Amerikassa kuitenkin jo miljoonia vuosia tätä aikaisemmin ja tämä on yksi syy siihen, miksi ajatellaan, että ulkoisella mineraaliaineksella voisi olla suurempikin merkitys hypsodontian kehittymiselle. Mihlbacher et al. ehdottavat kuitenkin tutkimuksessaan, että syitä viiveeseen voisivat olla myös kasvinsyöjänisäkkäiden hidas ja vaiheittainen siirtyminen lehvästön syöjistä avoimempien ympäristöjen heinäkasvien syöjiksi.

Koenigswald et al. (1999) ovat tehneet tutkimuksen liittyen Gondwanatheria-nimiseen, jo sukupuuttoon kuolleeseen nisäkäsryhmään, jonka edustajille kehittyi hypsodonttiset hampaat jo liitukaudella (145 – 66Ma) kauan ennen heinien evoluutiota. Yksi tällainen nisäkäs oli *Sudamerica ameghinoi*, jonka uskotaan olleen kaivamiseen sopeutunut ja osin maan alla elävä nisäkäs. Sen ruokavalioon on pitkäkruunuisten hampaiden perusteella kuulunut paljon kuluttavaa materiaalia, kuten juurimukuloita ja ulkoista mineraaliainesta.

Fossiilisista hampaista on tutkittu niiden morfologian lisäksi myös mikroskooppitason kulumaa. Tarkkaa ruokavaliota on kuitenkin vaikea määrittää, mutta tärkein aspekti tässä tutkimuksessa on se, että hypsodontiaa ei voida pelkästään yhdistää heinien evoluutioon vaan se on ennemminkin adaptaatio elinympäristön vaatimuksille.

Billet et al. (2009) ovat tutkineet jo sukupuuttoon kuolleiden, Etelä-Amerikan kaviokyntisiin kuuluvien nisäkkäiden (Notoungulates) hampaiden mikrokulumiskuvioita. Tämä ryhmä on yksi varhaisimmista heinän syöjistä Etelä-Amerikassa, jolle kehittyi hypsodonttiset hampaat myöhäisen eoseenin ja varhaisen oligoseenin välisenä aikana (Kay et al., 1999). Suurin osa tutkimuksessa havainnoituja mikroskooppisia kulumisjälkiä olivat ohuet naarmut, joiden arvellaan aiheutuneen heinien sisärakenteiden fytoliiteista. Strömbergin (2011) mukaan heinät kuitenkin yleistyivät Etelä-Amerikassa vasta aikaisintaan myöhäisellä oligoseenilla, paremminkin vasta mioseenilla. Billet et al. ehdottavat, että avoimien ympäristöjen heinäkasvit olisivat yleistyneet Etelä-Amerikassa miljoonia vuosia aikaisemmin, jolloin se korreloisi notoungulaattien hypsodontian kanssa. Toisena vaihtoehtona he esittävät, että hampaiden mikrokulumisnaarmut ovat voineet aiheutua myös muunlaisesta kulutuksesta, muuan muassa ulkoisesta mineraaliaineksesta ja että tämän lisäksi myös leukojen jauhamisliikkeellä saattaisi olla vaikutusta mikrokulumiskuvioon.

Heinien sisäisten fytoliittien lisäksi hampaita kuluttavaksi voimaksi on yleisesti hyväksytty myös kasvien pinnalla olevat ulkoiset partikkelit. Janina Rannikon pro gradussa tutkittiin hiekan aiheuttamaa kulumista ja tässä pro gradussa mukaan otettiin vulkaaninen tuhka. Spradley et al. (2016) ovat myös tutkineet tuhkan vaikutuksia hampaiden kulumiseen. Heidän tutkimuksessaan on käytetty tummamölyapinan (*Alouatta palliata*) poskihampaita ja väliposkihampaita Panamasta, Costa Ricasta ja Nicaraguasta (Kuva 1.). Alueet, joilta näytteet ovat peräisin, edustavat kolmea ilmastollisesti erilaista ympäristöä. Panaman näytteet on kerätty trooppiselta sademetsäalueelta, jossa sateita saadaan runsaasti tasaisesti koko vuoden ympäri. Costa Rican ja Nicaraguan näytteet on puolestaan kerätty trooppisista kuivista metsistä, joissa vallitsee sekä kuivakausi, että sadekausi. Osa Nicaraguan näytteistä on lisäksi alueilta, jotka ovat olleet voimakkaiden vulkaanisten prosessien vaikutuspiirissä näytteitä edustavien apinoiden elinaikana. Spradleyn tutkimustulosten mukaan sademetsän ja kuivan metsän tummamölyapinoiden poskihampaiden kulumisessa ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja eikä myöskään tuhka lisännyt kulutusta. Vulkaanisen tuhkan vaikutuspiirissä elävien tummamölyapinoiden väliposkihampaat olivat puolestaan merkittävästi kuluneempia kuin apinoiden, jotka elivät tuhkan vaikutuspiirin ulkopuolella.

Vulkaanisten prosessien alueelta peräisin olevat väliposkihampaat olivat eniten kuluneita riippumatta olivatko ne peräisin sademetsästä tai kuivasta metsästä. Se että väliposkihampaat ovat kuluneet poskihampaita merkittävästi enemmän kuulostaa luonnolliselta, sillä edessä olevat hampaat prosessoivat ruokaa kauemmin kuin takana sijaitsevat poskihampaat. Lisäksi lehtien seassa suuhun joutuva mineraaliaines saattaa kulkeutua eteenpäin ruuansulatukseen jo väliposkihampaiden prosessoimisen jälkeen jolloin kosketus poskihampaiden kanssa jäisi vähäiseksi. Spradleyn mukaan fluoroosi eli hammaskiilteen kehityshäiriö saattaisi olla myös yksi selitys väliposkihampaiden kulumiseen. Mölyapinoiden poskihampaat puhkeavat ja mineralisoituvat ennen väliposkihampaita. Jos väliposkihampaat eivät ole olleet täysin kehittyneitä apinoiden eläessä vulkaanisen tuhkan vaikutuspiirissä, ne ovat voineet olla herkempiä kulumiselle ja edelleen fluoroosille, jota vulkaanisten prosessien ympäristöön lisäämä fluoridi edelleen kiihdyttää.



Kuva 1. Punaiset tähdet edustavat aktiivisia tuolivuoria, keltaiset pisteet kuivia metsiä, joista näytteet on kerätty ja vaaleanpunaiset alueet vulkaanisen tuhkan vaikutuspiiriä. Nuoli kertoo tuulen suunnan. Muokattu: Spradley et al., 2016

Hoffman et al. (2013) ovat tutkineet vulkaanisen tuhkan mikroskooppisia kulumisjälkiä sorkkaeläinten fossiilisista hampaista. Näytteet ovat peräisin Yhdysvalloista, myöhäisen mioseenin aikaisesta sedimenttikerrostumasta, joka on syntynyt voimakkaan vulkaanisen purkauksen aikana. Hoffman et al. käyttivät tutkimuksessaan sekä heinän syöjien, että lehtevän kasvillisuuden syöjien hampaita. Tuloksissa todettiin, että naarmujen ja kuoppien välillä molemmissa ryhmissä okklusiopintojen vallitseva mikrokulumisjälki oli naarmu. Kyseisen alueen lehtevän kasvillisuuden syöjien hampaita verrattiin myös samantyyppisen kasvillisuuden syöjiin alueelta, jolla ei ollut vulkaanista toimintaa. Tuhkaa sisältävän sedimenttikerroksen fossiiliset hampaat olivat merkittävästi kuluneemmat ja sisälsivät

huomattavasti enemmän kulumiskuvioita kuin tuhkattomasta ympäristöstä peräisin olevat hampaat.

Hypsodontian evoluutiota voidaan tutkia myös paleobotaniikan avulla. Näin on tehnyt muun muassa Regan E. Dunn et al. (2015) tutkimalla Etelä-Amerikan Patagonian alueen kasvifossiileja kenotsooiselta maailmankaudelta. Niiden avulla hän on koonnut aineiston, joka kertoo muun muassa lehtipinta-alaindeksin (LAI) perusteella alueen lehväkatoksen peittävyyyden vaihteluista ja tämän vaikutuksesta hypsodontian kehittymiseen. Tuloksien mukaan eoseenin ja varhaisen mioseenin aikana lehtipinta-alaindeksi on ollut pieni ja samaan aikaan monien nisäkäslajien hammaskruunu on pidentynyt. Toisin sanoen avoimien ympäristöjen vallitessa ja vulkanismin sekä tuulieroosion ollessa voimakasta, hypsodontiset lajit ovat lisääntyneet. Dunnin mukaan ilmateitse kulkeutuvalla sekä sedimenteistä vapautuvalla tuhalla on saattanut olla suurikin merkitys hypsodontian evoluutiolle.

Žliobaitė et al. (2016) ovat tutkineet Kenian suurten kasvinsyöjänisäkkäiden hampaiden kulumista ja kuinka se korreloi juuri ympäristön muutosten ja käytettävissä olevien resurssien vaihteluiden kanssa. He ovat tulleet siihen tulokseen, että muuttuvat ympäristöt ja tiettyjen resurssien puute ovat vaikuttaneet kyseisten eläinten sopeutumiseen ja edelleen hampaiden evoluutioon, muun muassa hypsodontiaan.

Lukuisat eri metodeille perustuvat tutkimukset osoittavat, että hypsodontian evoluutiota tutkittaessa on otettava huomioon monia eri asioita ja vertailtava tutkimustuloksia aihealueittain. On todennäköistä, että nisäkkäiden hammaskruunun piteneminen ei ole tapahtunut pelkästään yhden evolutiivisen voiman ansiosta vaan on monien muutosten summa. Tässä pro gradu-tutkielmassa kokeellinen tutkimus on tehty ainoastaan hampaiden mikroskooppisen kulumisen tarkastelun pohjalta, joten sen antamat tulokset ovat viitteellisiä ja niiden vahvistamiseen näytemäärää tulisi suurentaa ja tutkimusmetodia standardisoida. Mikrokulumiskuviot ja niiden määrät tarjoavat kuitenkin tulkittavaa informaatiota, jota yhdistelemällä muuhun jo olemassa olevaan tietoon on mahdollista tehdä johtopäätöksiä vulkaanisen tuhkan aiheuttamasta kulumisesta. Näistä pohdinnoista kerron enemmän Tulosten tarkastelu-osiossa.

3. MATERIAALIT

Tämän pro gradun on mahdollistanut Sastamalan teurastamo, josta sain hakea viisi hevosen päätä. Päät toimitettiin Luonnontieteelliseen keskusmuseoon entsymaattiseen liuotukseen, josta ne haettiin takaisin ilman pehmytkudoksia, puhtaina pääkalloina. Jokaisesta kallosta irrotettiin koetta varten ylä,- sekä alaleukaluun molemmilta puolilta ensimmäiset ja toiset poskihampaat sekä kolmannet ja neljännet väliposkihampaat niiden symmetrisyyden vuoksi. Modernin hevosen hampaat valikoituivat tähän, kuten myös Rannikon, pro graduun sen vuoksi, että ne ovat hypsodonttisia, muodoltaan pitkulaisia, homologisia, suurikokoisia ja sahaamalla okkluusiopinnan tasaiseksi, niistä saa näkyviin kaikki rakenneosat; kiilteen, dentiinin sekä sementin. Hevosen hampaat soveltuvat myös parhaiten kokeessa käytettyyn Aleksis Karmeen kehittämään purulaitteeseen.



Kuva 2. Kuvan ensimmäisessä osassa hevosen (*Equus caballus*) pääkallo ja toisessa osassa hevosen alaposkihampaan sahattu okkluusiopinta, jossa näkyy kaikki rakenneosat; kiille, hammasluu ja sementti.

(Kuva: Milena Hauhia)

Hampaita kuluttavina ainesosina kokeessani käytettiin kasviruokapellettiä ja vulkaanista tuhkaa. Ruokapelletti, jonka Marcus Clauss on toimittanut Zurichistä, Sveitsistä, koostui suurimmalta osin sinimailasesta (*Medicago sativa*), joka on valkuaisainepitoinen, yleisenä rehukasvina pidetty, hernekasvi (Taulukko 1). Janina Rannikko käytti myös kyseistä pellettiä pro gradu tutkielmassaan esimerkkinä vähiten fytoliitteja sisältävästä ruoka-aineesta.

Taulukko1. Sinimailasen (*Medicago sativa*) raaka-aineet ja ravintoaineet.

aNDFom = amylaasin avulla eroteltu kuitu, ADFom = hapon avulla eroteltu kuitu, ADL = hapon avulla eroteltu ligniini, ADIA = hapon avulla eroteltu liukenematon tuhka

Raaka-aineet%	Sinimailanen (<i>Medicago sativa</i>) %
Sinimailanen	60
Puhdas lignoselluloosa	33,8
Melassi	3
Lignobond-pellettiliima	2
Soijaöljy	1
Mineraalivitamiinivalmiste	0,2
Kuiva-ainepitoisuus	91,4
Ravintoaineet (g/kg, kuiva)	
Tuhka	79
Raaka proteiini	102
aNDFom	578
ADFom	434
ADL	131
ADIA	5

Sinimailasta voidaan tässä tutkimuksessa verrata puiden lehvästöön, mikä kuluttaa kasvinsyöjänisäkkään hampaita vähemmän kuin kuituiset heinäkasvit. Kuten heinää sisältävä ruokavalio, myös puiden lehdet ovat usein ulkoisen mineraaliaineksen kyllästämiä mutta missä määrin, on ollut monien tutkimuksen kohteena. Peter Warneckin (1988) mukaan mineraalipartikkelit voivat matkustaa pitkiäkin matkoja ilmakehän pölyn mukana ja kumuloitua lopulta niin puiden lehvästöön kuin matalampaankin kasvillisuuteen. Geissler et al. (2018) ovat tutkineet ulkoisen mineraaliaineksen määriä muun muassa puiden lehtien pinnoilta hiekkaisissa ja kuivissa ympäristöissä ja tulleet siihen tulokseen, että mitä korkeammalla lehdet sijaitsevat, sitä vähemmän



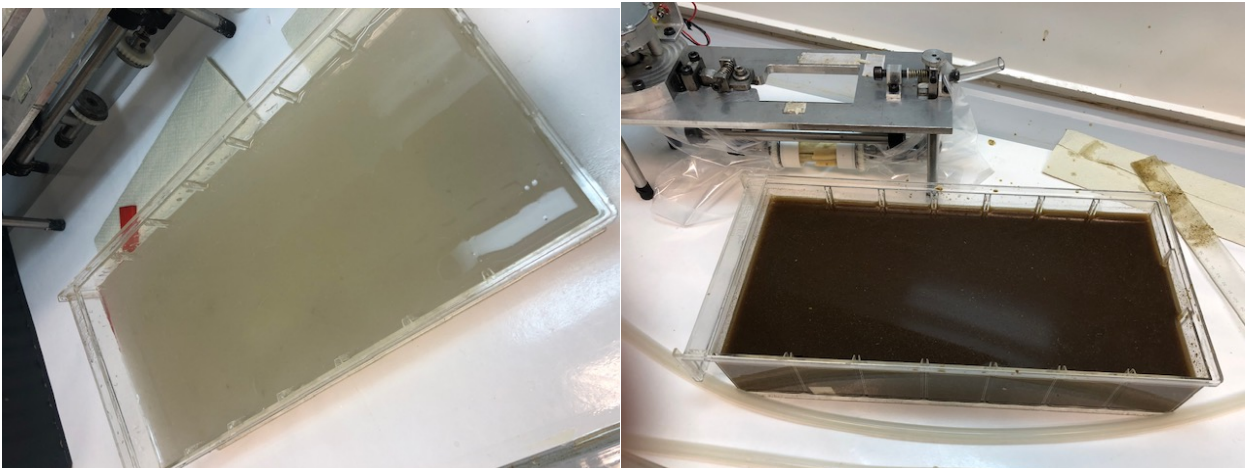
niissä on pölyä. Hummel et al (2010), ovat puolestaan tehneet tutkimusta siitä, kuinka paljon mineraaliainesta löytyy ruohonsyöjien sekä puiden lehtien syöjien ulosteesta. Molemmista ryhmistä sitä löytyy, ruohonsyöjiltä enemmän kuin puiden lehtiä syövilta nisäkkäiltä. Tosin kyseinen tutkimus on suuntaa antava, sillä kasvin ulkoiset ja sisäiset mineraalipartikkelit on usein vaikea erottaa toisistaan. Janina Rannikko testasi tutkimuksessaan sinimailasen, heinän ja heinään sekoitetun hiekan kuluttavia vaikutuksia ja tähän pro graduun valikoitui sinimailanen sen takia, että sen kulumiskuvioita voitiin verrata sekoitukseen, jossa on sekä sinimailasta, että ulkoista mineraaliainesta, tässä tapauksessa vulkaanista tuhkaa.

Chicagon yliopiston biologian ja anatomian professori Richard H. Madden toimitti vulkaanisen tuhkan Helsingin yliopistoon hampaiden kulumistutkimuksia varten. Tuhka on peräisin hohkakivikerrostumasta Yellow Stonen kuuman pisteen alueelta, eteläisestä Idahosta, Pohjois-Amerikasta. Kaivosyhtiö, Hesspumice, on kaivanut kyseistä ainesta teolliseen tarkoitukseen jo vuodesta 1958 lähtien. Tuhkakerrostumien alkuperäisestä syntytavasta ei ole varmuutta mutta niiden oletetaan syntyneen plioseenilla (5,3 – 2,6Ma) tai myöhäisellä mioseenilla (11,6 – 5,3Ma) hyvin voimakkaissa vulkaanisissa prosesseissa. Tuhkan kemiallinen koostumus on suurimmaksi osaksi piidioksidia eli kvartssia (Taulukko 2).

Taulukko2. Tutkimuksessa käytetyn vulkaanisen tuhkan kemiallinen analyysi ja fyysiset ominaisuudet.

Tuhkan kemiallinen analyysi	Tuhkan fyysiset ominaisuudet
Piidioksidi 76,2%	Kemiallinen nimi:amorfinen alumiinisilikaatti
Alumiinioksidi 13,5%	Kovuus (MOHS): 6
Rautaoksidi 1,1%	pH: 7,2
Ferro-oksidi 0,1%	Radioaktiivisuus: ei ole
Natriumoksidi 1,6%	Sulamispiste: 900 celsiusastetta
Kaliumoksidi 1,8%	Vesiliukoiset yhdisteet: 0,15%
Kalkki 0,8%	Reaktiivisuus: inertti
Titaanidioksidi 0,2%	Ulkomuoto: valkoinen jauhe
Magnesiumoksidi 0,5%	
Kosteus <1,0%	

Tutkimusta varten sekoitettiin kolme erilaista ruokaseosta kuluttamaan hampaita. Ensimmäisessä seoksessa käytettiin ainoastaan vulkaanista tuhkaa ilman kasvipellettiä, koska haluttiin nähdä minkälaista mikrokulumisjälkeä se hampaan kiillepintaan aiheuttaa. Astiaan veden sekaan lisättiin viisi prosenttia seoksen kokonaismäärästä raekooltaan siltin kokoista (0,002mm -0.063mm) vulkaanista tuhkaa ja lisäksi liukastegeeliä, koska tuhkan oli pysyttävä suspensiossa eikä se saanut vajota astian pohjalle. Toisessa seoksessa mukana oli kasvipelletti ja vulkaanisen tuhkan määrä seoksesta oli edelleen viisi prosenttia. Lisäksi siihen sekoitettiin suolaa 3g/l kasvisolujen hajoamisen estämiseksi. Kolmas seos oli edellisen kaltainen, mutta tuhkan määrä seoksen kokonaismäärästä oli kymmenen prosenttia. Tuhkan prosenttiosuutta vaihtelemalla oli tarkoitus tutkia, vaikuttaako sen määrä hampaan kiilteen kulumiseen eli korreloiko suurempi määrä suuremman kulutuksen kanssa.



Kuva 3. Kuvan ensimmäisessä osassa seos, jossa on pelkästään vulkaanista tuhkaa veteen ja liukasteeseen sekoitettuna ja toisessa osassa tuhka - vesi - suola - kasvipellettiseos. (Kuva: Milena Hauhia)

4. MENETELMÄT

4.1 Hampaiden preparointi

Jokaista ruokaseosta varten kalloista irrotettiin vähintään kymmenen hammasta eli viisi hammasparia, yhteensä siis yli 30 hammasta. Irrotusprosessissa apuvälineinä toimivat Dremel-saha, taltta ja vasara (Kuva 4.). Irrotuksen jälkeen hampaat säilöttiin pieniin muovipusseihin hieman kosteina, jotta ne eivät kuivuisi ja halkeilisi (Kuvat 5 & 6). Muovipussit merkittiin hampaan tiedoilla. Purulaitetta varten hampaita oli muokattava tietyn protokollan (Bertin et al., 2013) mukaan.



Kuva 4. (Milena Hauhia)



Kuva 5. (Milena Hauhia)



Kuva 6. (Milena Hauhia)

Ensimmäiseksi niistä poistettiin juuret sahaamalla ne kivisahalla tyvestä poikki. Näin niihin saatiin vaakasuora pinta, jota vasten ne liimattiin 3D-tulostimella skannattuihin muovirenkaiseen silikonimuotin avulla. Muotti sekä muovirenkaiden alaosaan sijaitsevat uurteet voideltiin valkovaseliinilla ennen liimausta, jotta rengas ei liimautuisi kiinni muottiin ja uurteet säilyisivät puhtaina liimasta purulaitteeseen kiinnitystä varten. Hampaiden oli pysyttävä tiukasti paikoillaan renkaissa, joten liimaseoksessa käytettiin epoksia ja kovetetta tietyssä suhteessa ja sen annettiin kuivua 24 tuntia. Kuivumisen jälkeen hampaiden okklusiopinta sahattiin kivisahalla tasaiseksi 33 asteen kulmassa (Kuva 7.). Sahaamisessa apuna käytettiin ajuria, johon hammas kiinnitettiin muovirenkaan avulla. Näin se oli mahdollista asettaa kivisahan terän eteen oikeassa kulmassa.



Kuva 7. Kuvan ensimmäisessä osassa hampaiden kiinnitystä muovirenkaiseen silikonimuotin avulla ja toisessa hammas kiinnitettynä ajuriin 33 asteen kulman sahausta varten. (Kuva: Milena Hauhia)

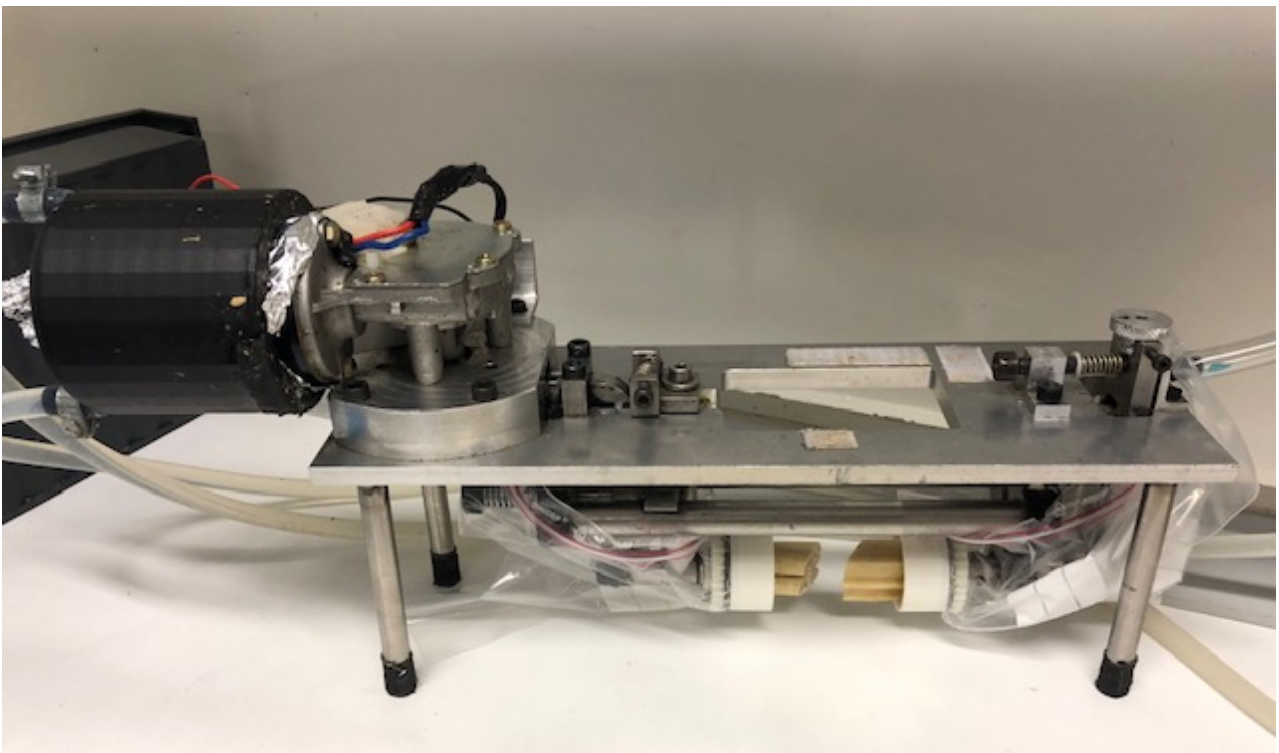
Kulman sahauksen jälkeen okklusiopinta hiottiin tasaiseksi Struers RotoPol-22-pyöröhiomakoneella, jotta kaikkien näytteiden pinnat saatiin samanlaisiksi riippumatta aikaisemmasta käsittelystä. Hiontaan käytettiin kiekkoa, jonka hiontapaperin karkeusluokka oli 220, laitteen kierrosluku oli 300 rpm ja voiteluaineena toimi vesi. Hiottaessa hammasta pidettiin sellaisessa asennossa, jotta hiontanaarmut syntyivät okklusiopintaan vinottain yläkulmasta alakulmaan. Näin ne pystyttiin jälkeensä erottamaan kokeen jälkeisistä kulumiskuvioista. Hiotusta pinnasta tehtiin myös valos silikonimuotin avulla. Hiotun hampaan pinnan päälle ja reunoille puristettiin Coltene PRESIDENT PLUS -silikonit automaattisesta 3M ESPE-sekoituslaitteesta, hammasta painettiin kevyesti silikonit vasten

tasaisella alustalla ja muotin annettiin kuivua kahden minuutin ajan. Näin muottiin syntyi hampaan pinnan hiomisnaarmut eli niin sanottu nollapinta. Muottiin kaadettiin kovetteella kyllästetty epoksiseos, jonka annettiin kuivua 24 tuntia jonka jälkeen silikonimuotti irrotettiin sen ympäriltä ja epoksivalos oli valmis (Kuva 8.).



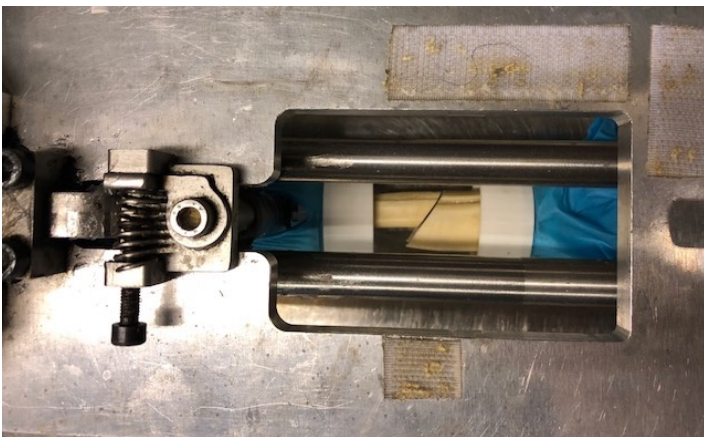
Kuva 8. Hampaan okklusiopinnasta tehty muotti ja valokset. (Kuva: Milena Hauhia)

4.2 Mekaaninen purulaite



Kuva 9. Mekaaninen purulaite (Kuva: Milena Hauhia)

Tutkimuksessani käytetty mekaaninen purulaite on rakennettu Helsingin yliopistossa, Geotieteiden ja maantieteen sekä Fysiikan laitoksen yhteistyön tuloksena (Kuva 9.). Sen tarkoituksena on simuloida edestakaista puruliikettä, jossa ylä-, ja alahampaan okkluusiopinnat osuvat toisiinsa jatkuvassa liikkeessä. Laitteen avulla ei yritetty jäljitellä eläimen luonnollista ruuan jauhamismekanismia vaan yksinkertaistettu puruliike, jonka avulla hampaiden purupintoihin syntyi eri ruokavalioista aiheutuvaa mikrokulumista. Kokeella pyrittiin myös luomaan luonnossa tapahtuvaa kulutuskuviota kuten kasviruokavalion aiheuttamia naarmuja ja ulkoisen mineraaliaineksen aiheuttamia kuoppia. Purulaitteeseen kiinnitettiin yksi pari hampaita kerrallaan ja se asetettiin ruokavalioastiaan siten, että hammaspari peittyi kokonaan ruokamassan alle. Näin varmistettiin abraasio ja vältettiin pelkkää attritiota. Alahammas kiinnitettiin laitteen pidikkeeseen, joka liikkui piensähkömoottorin avulla edestakaisessa horisontaalisessa liikkeessä ylähammasta vasten, joka puolestaan osuessaan alahampaaseen antoi hieman periksi. Tällöin alahammas liukui ylähampaan ohi kuitenkin osuen sen okkluusiopintaan. Jokaisen hammasparin purupinnat osuivat toisiinsa noin 100 000 kertaa (6,5 – 8,5h), mikä vastaa noin seitsemää päivää modernin hevosen elämässä. Ruokavalioita oli kolme erilaista ja jokaista ruokavaliota kohtaan purulaitteessa pureskeli viisi paria hampaita. Hampaiden jauhaessa ruokamassaa oli jatkuvasti sekoitettava manuaalisesti, jotta se pysyi homogeenisenä. Moottorin ympärille oli kehitetty jäähdytysjärjestelmä, koska useiden tuntien jatkuva päällä olo kuumensi sen muuten herkästi. Tästäkin huolimatta moottori jouduttiin vaihtamaan kolme kertaa kokeeni aikana. Moottorin vaihdon jälkeen jauhamisnopeus vaihteli, joten kokonaisjauhamisaika hammasparia kohden laskettiin aina erikseen puruliikkeiden määränä minuutissa ja sen mukaan aikana, jolloin 100 000 puraisua tulisi täyteen. Kokonaistuntimäärä hammasparia kohden vaihteli 6,5 – 8,5h välillä moottorin nopeudesta riippuen.



Kuva 10. Hampaat kiinnitettynä purulaitteeseen. (Kuva: Milena Hauhia)

4.3 Hampaan okklusiopinnan mikrokulumisen analysointi

Jauhamisvaiheen jälkeen jokaisen hampaan okklusiopinnan kiilteestä analysoitiin sen mikrokuluminen. Kulutetusta pinnasta tehtiin valokset samalla tekniikalla kuin ennen kulutusta. Tässä vaiheessa epoksiseosta kuitenkin lämmitettiin ennen muotittiin kaatamista ilmakuplien määrän minimoimiseksi, koska ne olisivat haitanneet mikrokulumisjälkien laskemista. Epoksivalokset asetettiin elektronimikroskoopin alle lasisen alustan päälle ja ulkoinen valonlähde (värilämpötila 3050K) asetettiin siten, että kulumiskuviot tulivat näkyviin. Mikroskooppi oli kytketty Colorview 3. u -kameraan ja edelleen tietokoneeseen, jossa analySIS®-ohjelman (Olympus Soft Imaging System GmbH) avulla pinnasta otettiin suurennokseltaan 32-kertainen valokuva kiillenauhan kahdesta eri kohdasta. Valokuva otettiin siten, että kulumiskuvio kulki kuvassa 45 asteen kulmassa vastakkaiseen suuntaan nollapinnan hiomisnaarmuja vasten. Kuvaan lisättiin 1mm mittakaavapalkki.

Kuvat käsiteltiin edelleen Corel Paintshop Pro X5 -ohjelmalla, jonka avulla kulumiskuvioita värjättiin siten, että ne näkyivät kuvissa paremmin. Tämän jälkeen joka kuvasta rajattiin 0,4 x 0,4mm suuruinen alue kohdasta, joka keskimääräisesti edusti kuvan kiillenauhaa, ei siis kohdasta, joka olisi ollut poikkeava tai ilmakuplia sisältävä. Tämän jälkeen mikrokulumisjäljet laskettiin rajatulta alueelta Microware 4.02 -ohjelman avulla. Ohjelma laskee naarmuja ja kuoppia siten, että viivojen suhteen ollessa alle $\frac{1}{4}$, jälki on naarmu ja jos suhdeluku on yli $\frac{1}{4}$, jälki on kuoppa. Naarmut ja kuopat merkittiin kuvaan manuaalisesti punaisin viivoin. Näin samoja jälkiä ei laskettu vahingossa kahteen kertaan.

Koska Janina Rannikko on tehnyt pro gradunsa käyttäen samaa metodologia ja samoja ruokapellettejä, sain käyttää hänen dataansa koskien ruokaseosta, jossa hampaita kulutettiin pelkällä sinimailasella. Laskin kuitenkin itse kulumisjäljet hänen ottamistaan kuvista, jotta laskentatapa pysyisi samanlaisena jokaisen ruokavalion kohdalla.

Microware -ohjelmalla kerätty koordinaattidata vietiin Excel-tilukkolaskentaohjelmaan, jonka avulla mikrokulutuskuviot jaettiin eri sarakkeisiin niiden ominaisuuksien perusteella. Kuopat ja naarmut lajiteltiin edelleen pieniksi, suuriksi ja erittäin suuriksi kuopiksi sekä ohuiksi ja leveiksi naarmuiksi. Ohjelman avulla pystyttiin myös laskemaan muun muassa jälkien keskimääräisiä pituuksia ja leveyksiä ja kulumisjälkien kokonaismäärä. Kaavioiden avulla data muutettiin helpommin tulkittavampaan muotoon ja yksisuuntaisen varianssianalyysin (ANOVA) avulla tarkasteltiin ruokavalioiden aiheuttamien jälkien tilastollista merkitsevyyttä ja eroja kahden eri ryhmän välillä testattiin kaksisuuntaisella t-testillä.

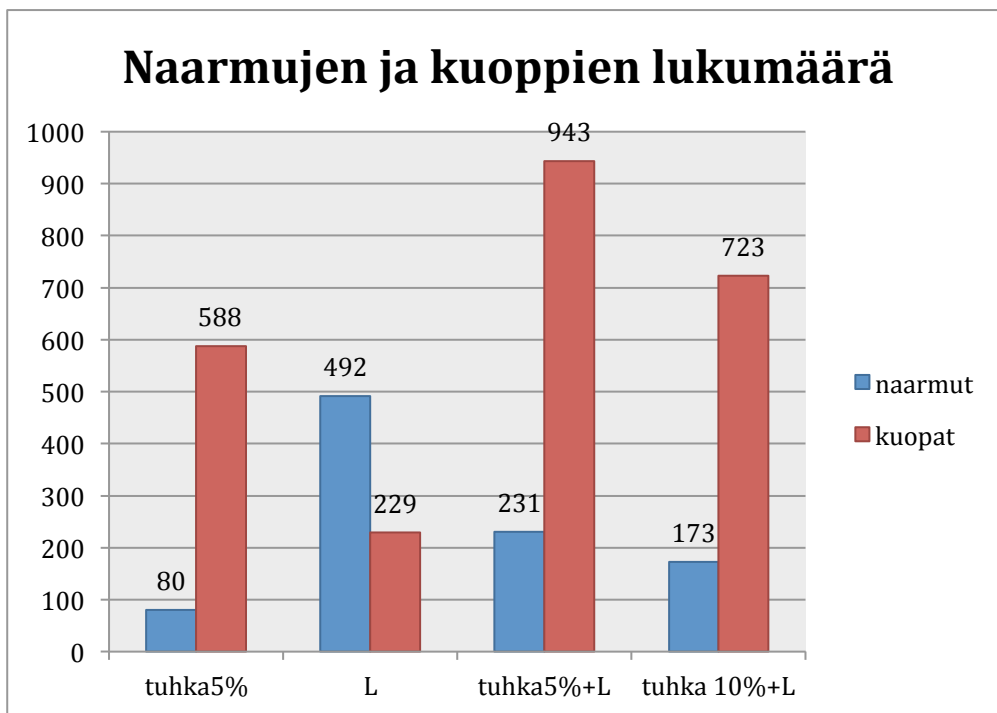
5. TULOKSET

Viisi hammasparia jauhoi noin 100 000 kertaa jokaisessa neljässä ruokavalioseoksessa.

Ruokavalioseokset olivat:

1. **tuhka5% = vesi + 5% tuhkaa**
2. **L = vesi + luserni eli sinimailanen (*Medicago sativa*)**
3. **tuhka5%+L = vesi + 5% tuhkaa + sinimailanen**
4. **tuhka10%+L = vesi + 10% tuhkaa + sinimailanen**

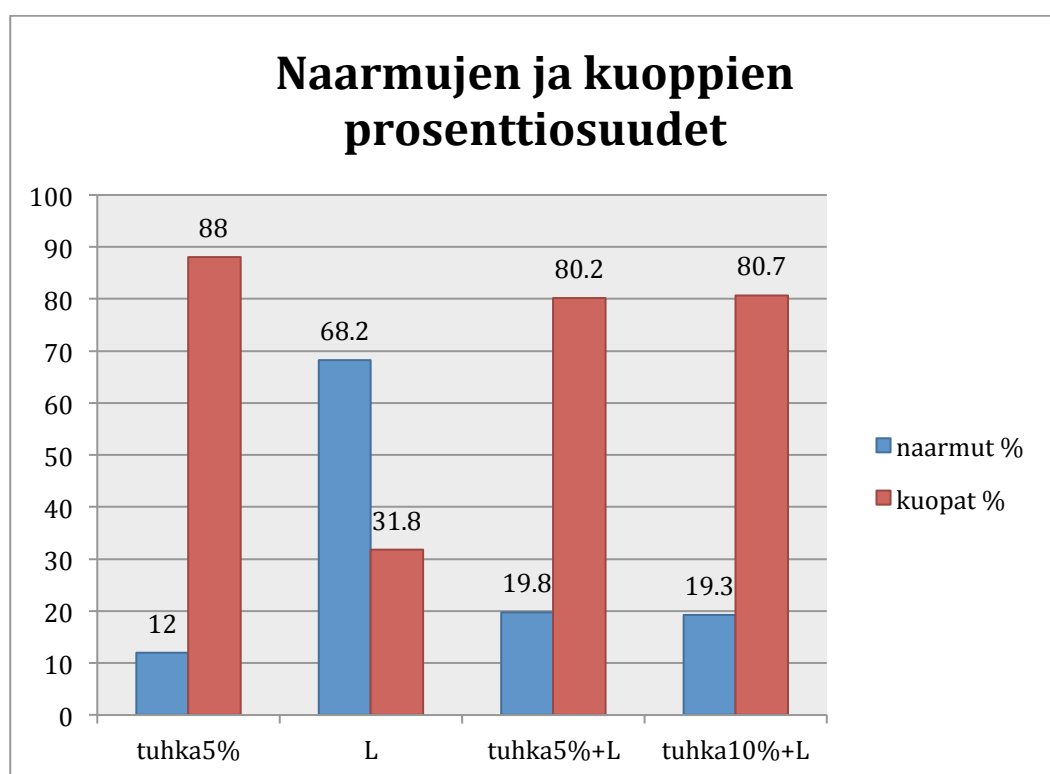
Kaaviossa (Kuva 11.) näkyy naarmujen ja kuoppien lukumäärä erikseen jokaisessa ruokavaliossa. Naarmuja on selkeästi eniten ruokavaliossa, jossa on pelkästään sinimailasta ja vähiten ruokavaliossa, jossa ei ole lainkaan sinimailasta. Kuoppia on puolestaan paljon ruokavalioissa, joissa on tuhkaa ja vähiten tuhkattomassa ruokavaliossa.



Kuva 11. Naarmujen ja kuoppien lukumäärä jokaisessa ruokavaliossa.

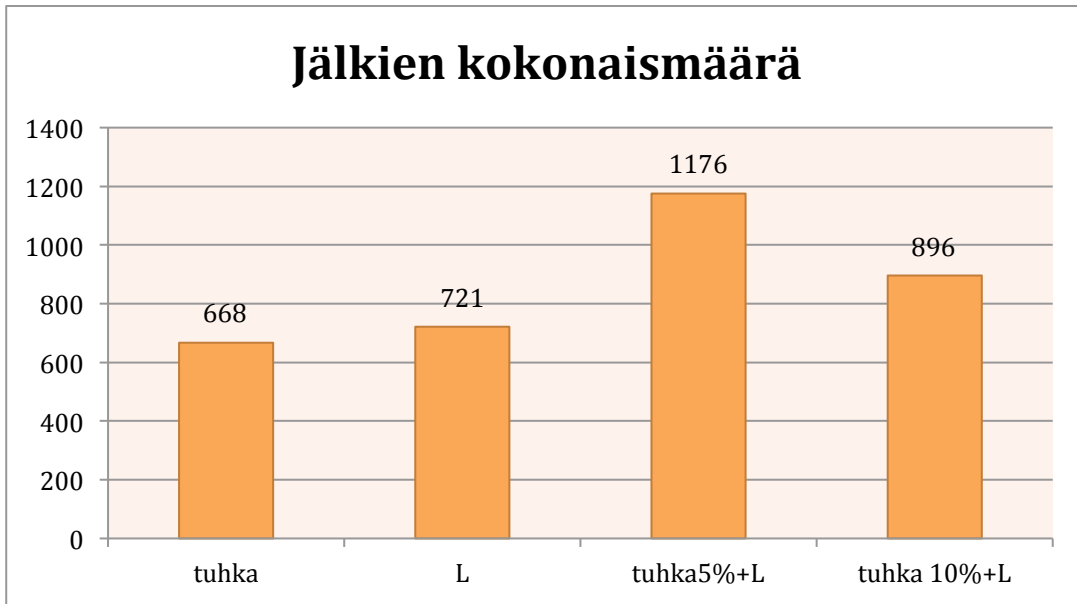
Prosentuaalisesti suurin ero naarmujen ja kuoppien välillä on ruokavaliossa, jossa on pelkästään tuhkaa eikä lainkaan sinimailasta. Kuoppia tässä seoksessa on lähes 90 prosenttia jälkien kokonaismäärästä (Kuva 12.). Tuhka5%+L ja Tuhka10%+L ovat prosentuaalisesti puolestaan lähes identtiset. Prosenttikaaviosta näkee myös, että kaikissa tuhkallisissa

ruokavalioissa kuoppien osuus on suuri, yli 80 prosenttia. Tämän perusteella voidaan sanoa, että tässä kokeessa vulkaaninen tuhka on merkittävin kuoppien aiheuttaja. Lehtevän kasvillisuuden syöminen eli tässä tapauksessa pelkästään sinimailasta sisältävä ruokavalio aiheuttaa hampaisiin naarmujen lisäksi myös kuoppia, kuten myös Rannikon tutkimuksesta käy ilmi. Prosentuaalisesti niitä on kuitenkin merkittävästi vähemmän kuin naarmuja.

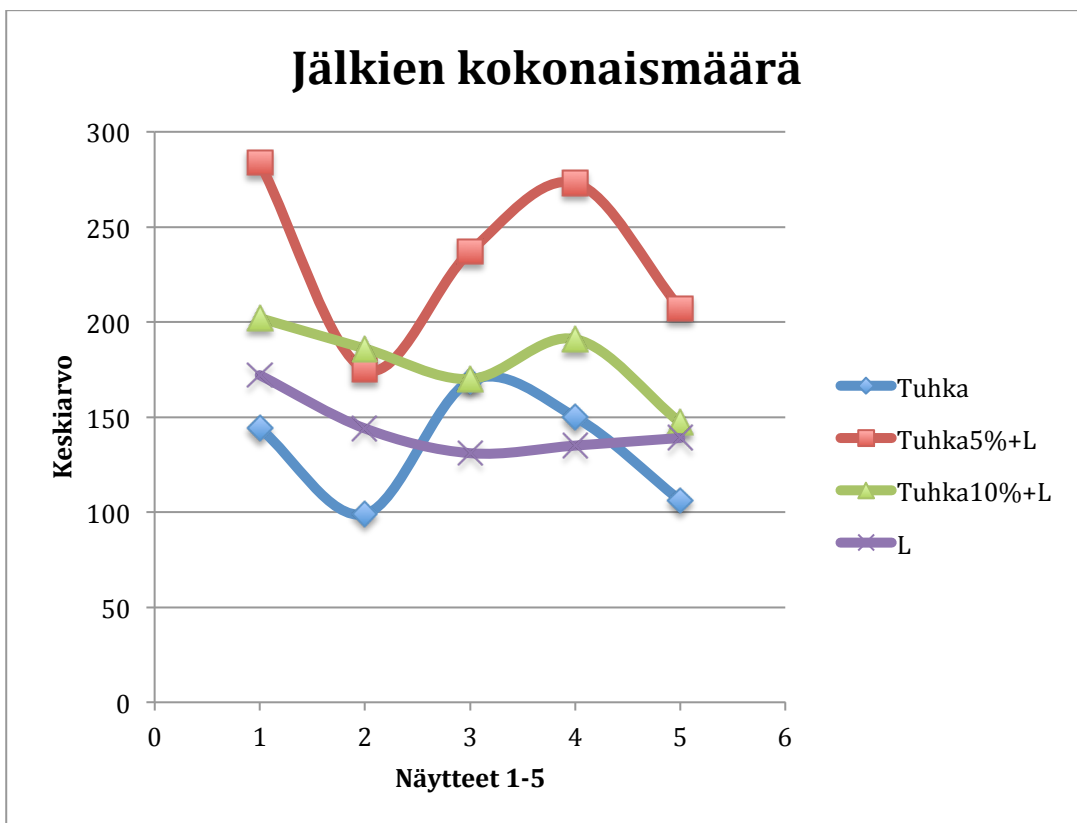


Kuva 12. Naarmujen ja kuoppien prosenttiosuudet ruokavalioittain.

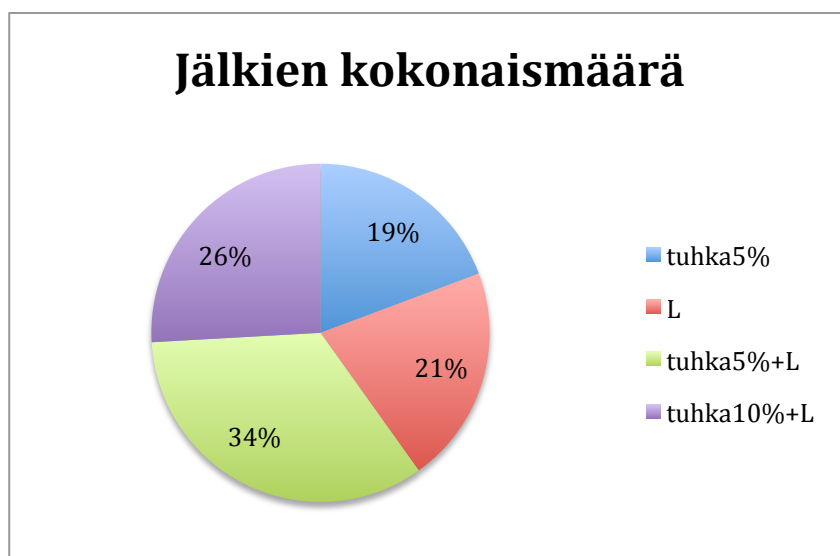
Tuhka5%+L-ruokavaliossa jälkien kokonaismäärä on suurin (Kuva 13.). Datapisteiden keskiarvojen hajontakuvaajasta (Kuva 14.) voidaan nähdä, että yksi datapisteistä poikkeaa merkittävästi muista pisteistä. Tämän hammasparin kohdalla kulutus on ollut jostain syystä voimakkaampaa tai purulaitteen moottorin nopeus on saattanut olla suurempi kuin muiden hammasparien kohdalla. Tämä saattaa selittää tuhka5%+L-ruokavalion aiheuttaman suuren jälkien kokonaismäärän. Tätä poikkeamaa lukuun ottamatta jälkien kokonaismäärä on ruokavalioiden välillä melko tasainen (Kuva 15.).



Kuva 13. Jälkien kokonaismäärä ruokavalioittain.

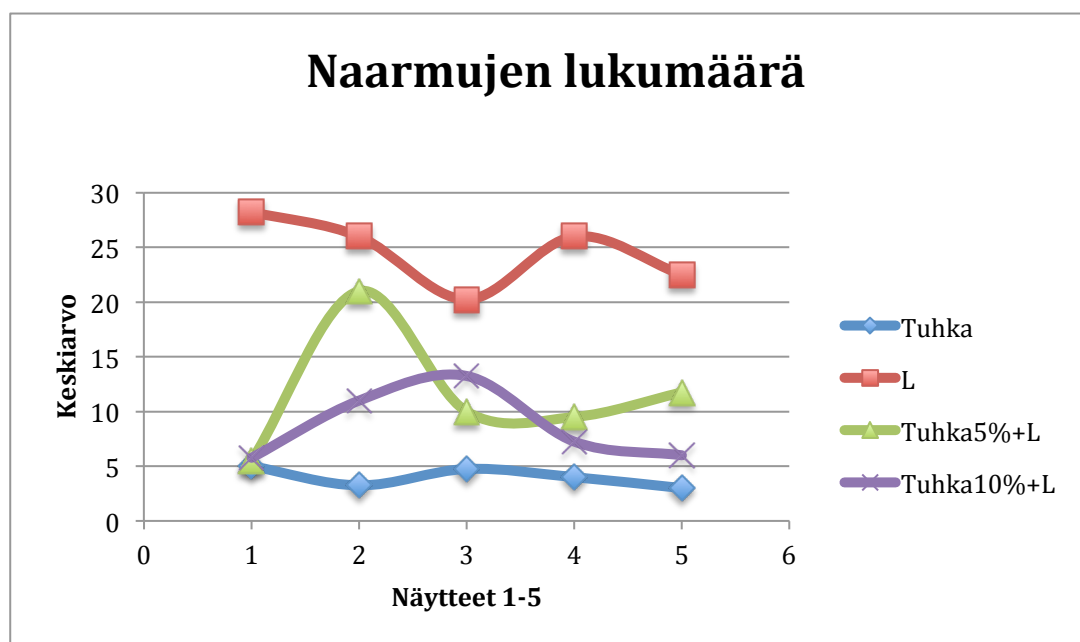


Kuva 14. Jälkien kokonaismäärien keskiarvot datapisteittäin. Näytteet 1-5 edustavat hammaspareja.

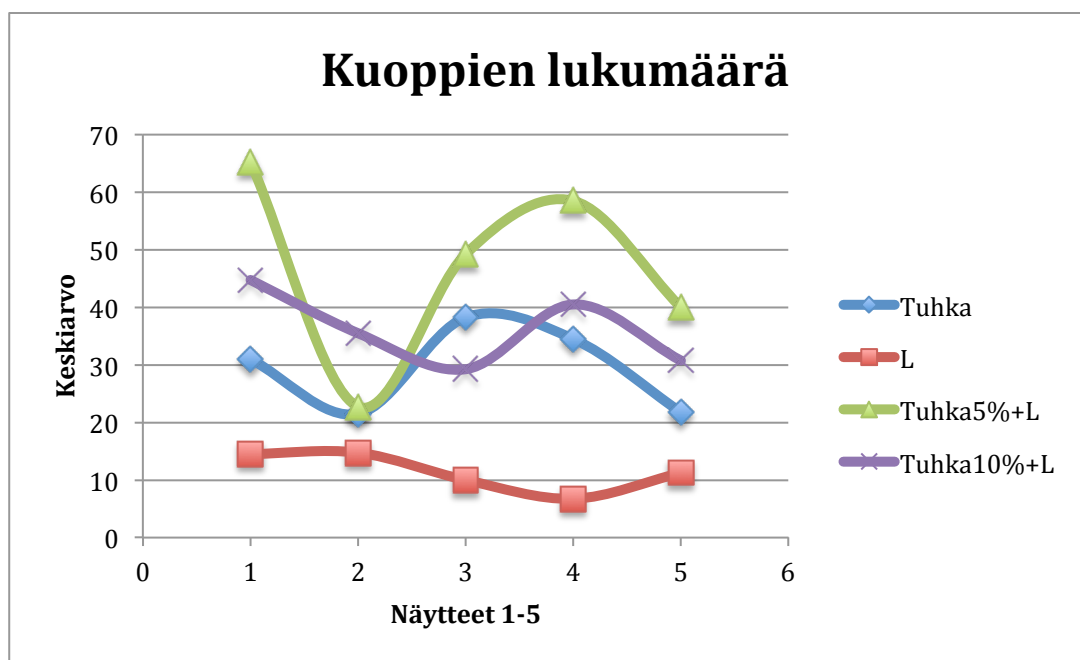


Kuva 15. Jälkien kokonaismäärä prosentuaalisesti ruokavalioittain.

Hajontakaaviosta (Kuva 14.) näkyy kaikkien hammasparien datapisteiden keskiarvot jälkien kokonaismäärän suhteen. L-ruokavalion jakauma on kaikkein tasaisin ja tähän syynä on oman arvioni mukaan se, että ruokavalio on tuhkaton eli ulkoiset mineraalipartikkelit eivät ole olleet aiheuttamassa kulumaa homogeenisessa pelkästään sinimailasta sisältävässä seoksessa. Sen sijaan tuhkaalisissa ruokavalioissa hajontaa löytyy, Tuhka5%+L-ruokavalion jälkeen toiseksi eniten pelkkää tuhkaa sisältävässä ruokavaliossa. Hajontaa voi seurata myös naarmujen ja kuoppien osalta erikseen (Kuva 16. ja Kuva 17.)

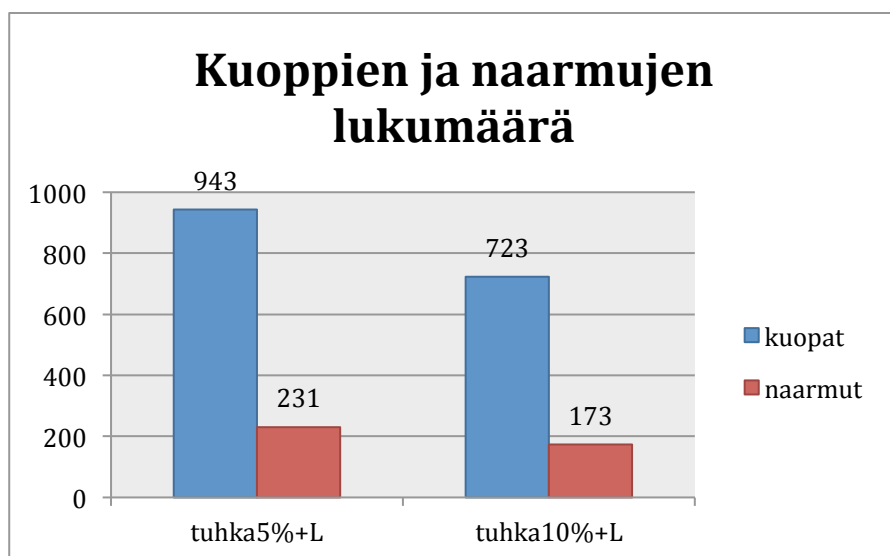


Kuva 16. Naarmujen lukumäärien keskiarvot datapisteittäin.



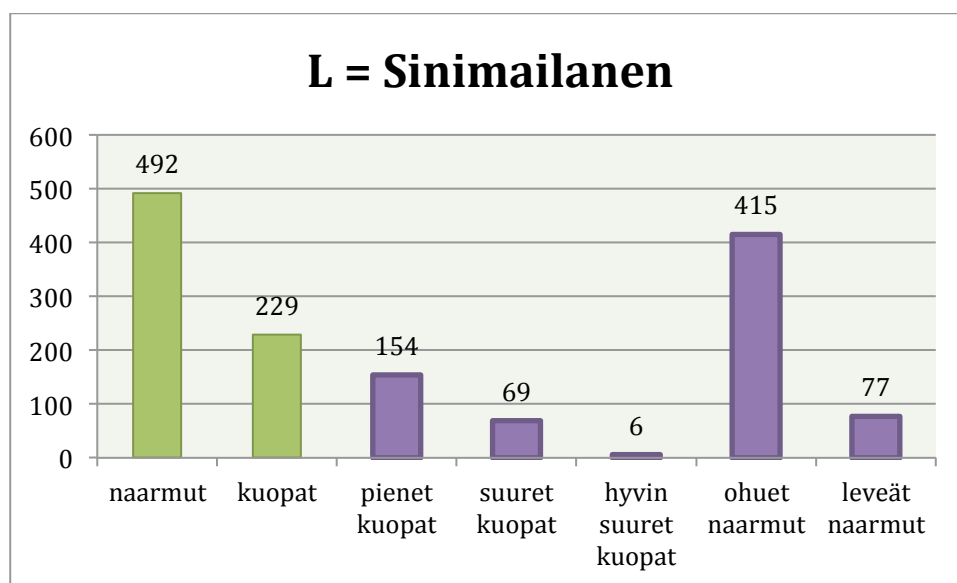
Kuva 17. Kuoppien lukumäärien keskiarvot datapisteittäin.

Pelkkää tuhkaa sisältävän ruokavalion aiheuttamien naarmujen hajonta hammaspareittain on melko vähäistä (Kuva 16.). Selitys tälle lienee naarmujen harvalukuisuus kyseisessä ruokavaliossa. Kuoppia kyseisessä ruokavaliossa oli puolestaan runsaasti, lähes 90 prosenttia, joten hajontakin on kohtalaista. Sama ilmiö näkyy L-ruokavalion kohdalla, jossa hajonta on vähäistä kuoppien osalta ja kohtalaista naarmujen osalta. Naarmujen osuus L-ruokavaliossa oli lähes 70 prosenttia. Toisin sanoen hajonta on vähäistä silloin kun jälkien kokonaismäärä on pieni ja suurenee jälkien lukumäärän kasvaessa Tuhka5%:n ja L:n osalta. Tuhka10%+L-ruokavaliossa oli siis prosentuaalisesti saman verran kuoppia ja naarmuja kuin Tuhka5%+L-ruokavaliossa. Lukumäärällisesti määrät poikkeavat hieman toisistaan Tuhka5%+L-ruokavalion hallitessa molempien jälkien suhteen (Kuva 18.)

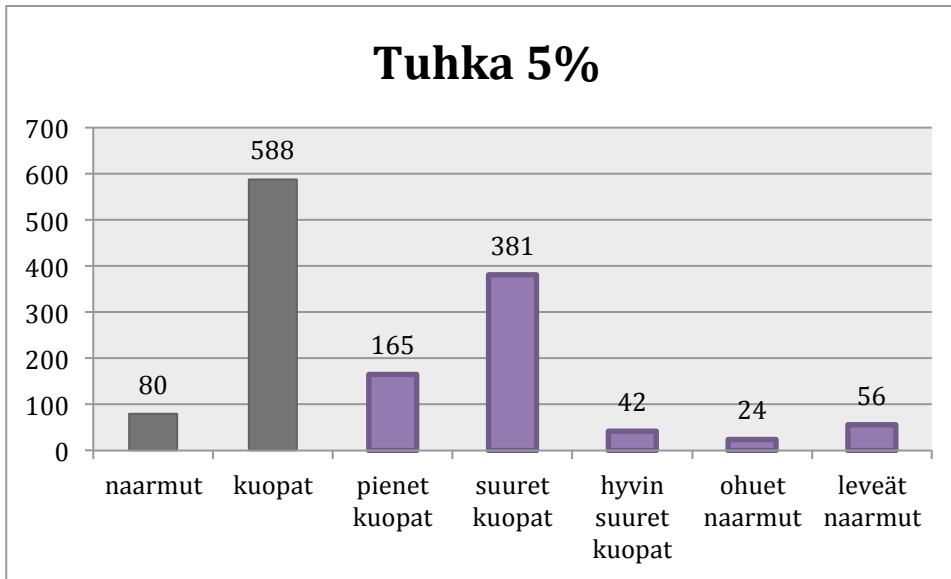


Kuva 18. Kuoppien ja naarmujen lukumäärä tuhka5%+L ja Tuhka10%+L-ruokavalioissa.

Kuvissa 19, 20, 21 ja 22 on eroteltu naarmujen ja kuoppien lukumäärät sekä lukumäärät jälkien koon perusteella ruokavalioittain. Jäljet on jaettu naarmujen osalta kahteen kategoriaan (Merceron et al 2005, Merceron et al. 2012), ohuisiin (leveys $<15\mu\text{m}$) ja leveisiin (leveys $>15\mu\text{m}$) naarmuihin ja kuoppien osalta kolmeen kategoriaan (Michlbachler et al. 2012), pieniin ($\varnothing <20\mu\text{m}$), suuriin ($\varnothing 20\text{--}50\mu\text{m}$) ja erittäin suuriin kuoppiin ($\varnothing >50\mu\text{m}$). L-ruokavaliossa (Kuva 9.) on naarmujen osalta eniten ohuita naarmuja ja kuoppien osalta eniten pieniä kuoppia. Suuria kuoppia on enemmän kuin erittäin suuria kuoppia.

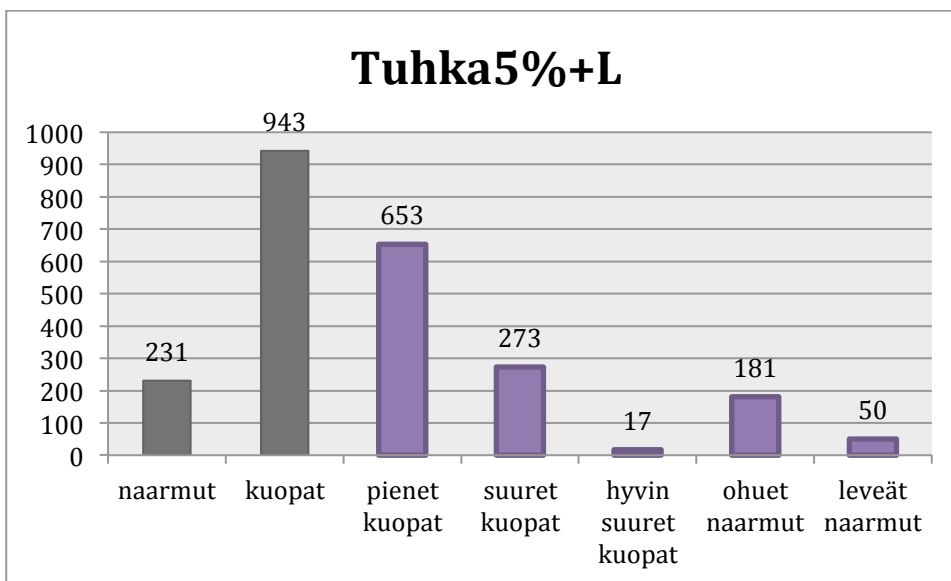


Kuva 19. Vihreät palkit osoittavat kuoppien ja naarmujen lukumäärän ja violetit palkit osoittavat lukumäärän jäljen koon perusteella L-ruokavaliossa.



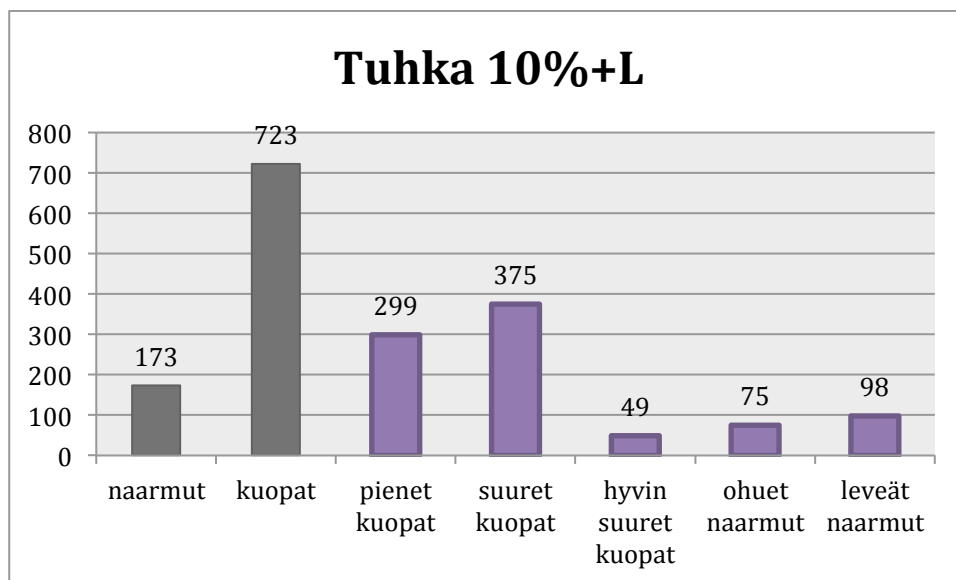
Kuva 20. Harmaat palkit osoittavat kuoppien ja naarmujen lukumäärän ja violetit palkit osoittavat lukumäärän jäljen koon perusteella Tuhka5%-ruokavaliassa.

Tuhka5%-ruokavaliassa on kuoppien suhteen eniten suuria kuoppia ja vähiten erittäin suuria kuoppia (Kuva 20.). Naarmuja ruokavaliassa on vähän ja kokoluokittain eniten leveitä naarmuja ja vähiten ohuita naarmuja. Tässä ruokavaliassa ei ollut lainkaan sinimailasta, joten tämän kokeen perusteella tuhka aiheuttaa enemmän suuria kuin pieniä jälkiä. Kun Tuhka5%-ruokavaliioon lisättiin sinimailanen, hampaan kiilteeseen syntyi naarmujen osalta eniten ohuita naarmuja ja kuoppien osalta eniten pieniä kuoppia (Kuva 21.), kuten myös pelkästään sinimailasta sisältävässä ruokavaliassa.



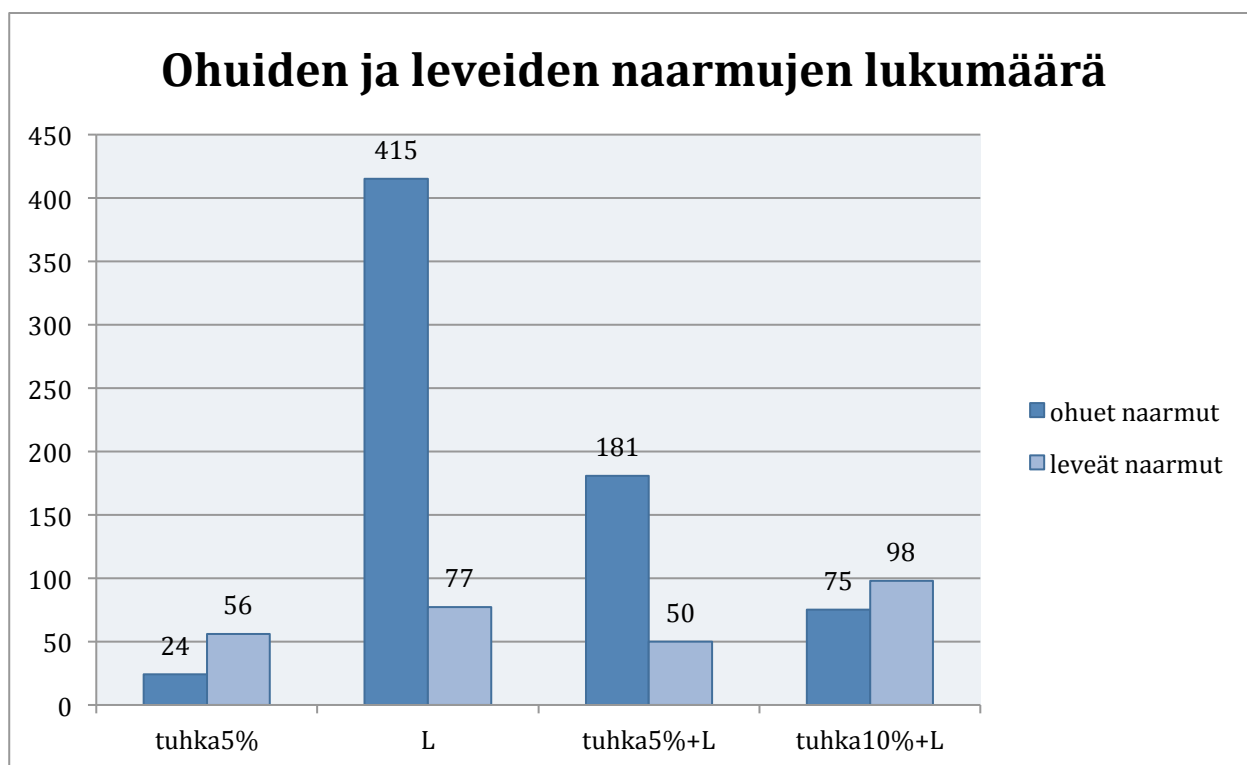
Kuva 21. Harmaat palkit osoittavat kuoppien ja naarmujen lukumäärän ja Violetit palkit osoittavat lukumäärän jäljen koon perusteella.

Tuhka5%+L-ruokavaliossa suuria kuoppia syntyi enemmän kuin erittäin suuria kuoppia. Sekä L-ruokavaliossa, että Tuhka5%+L-ruokavaliossa pieniä jälkiä on enemmän kuin suuria jälkiä ja pelkästään tuhkaa sisältävässä suuria jälkiä on enemmän kuin pieniä jälkiä.

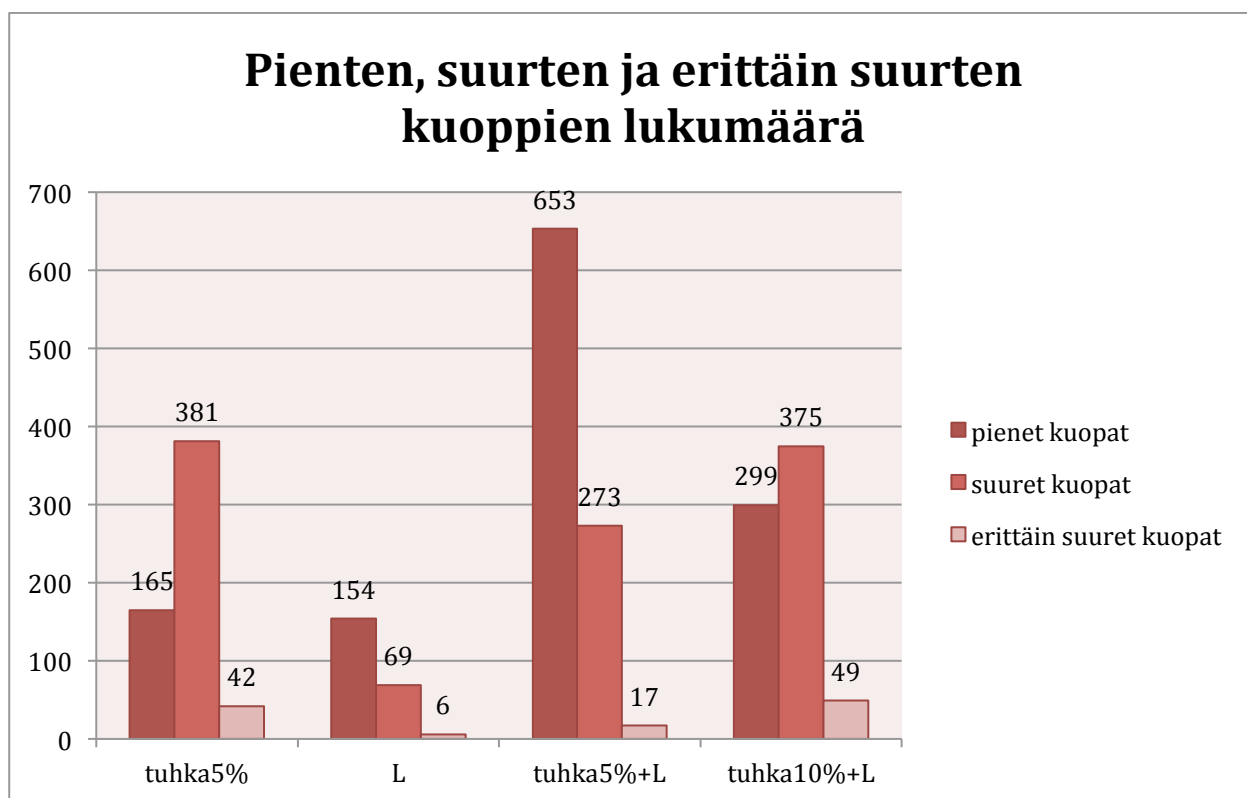


Kuva 22. Harmaat palkit osoittavat kuoppien ja naarmujen lukumäärän ja violetit palkit osoittavat lukumäärän jäljen koon perusteella.

Kun tuhkan määrää lisätään sinimailasseoksessa, suuret kuopat ja leveät naarmut muuttuvat hallitseviksi, toisin kuin Tuhka5%+L-ruokavaliossa, jossa pienet kuopat ja ohuet naarmut hallitsevat. Tuhka10%+L-ruokavaliossa syntyy siis eniten suuria kuin pieniä jälkiä, samalla tavalla kuin pelkässä tuhkaseoksessa (Kuva 22.).

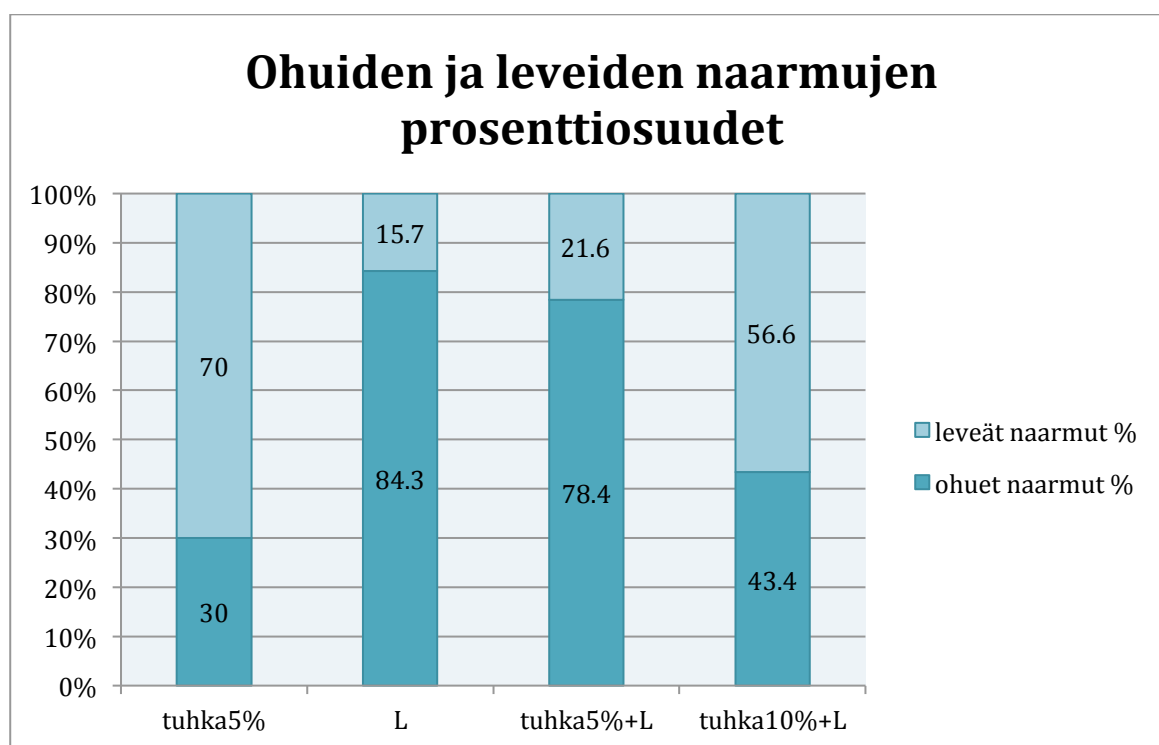


Kuva 23. Ohuiden ja leveiden naarmujen lukumäärät ruokavalioittain.



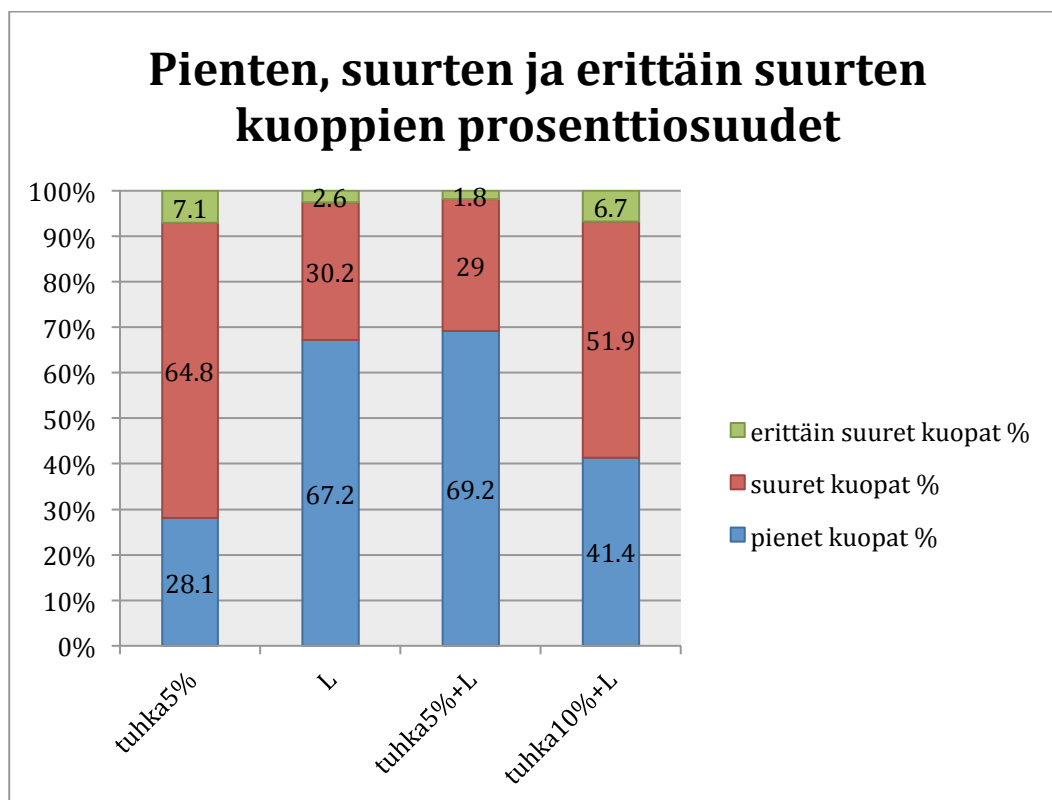
Kuva 24. Pienten, suurten ja erittäin suurten kuoppien lukumäärät ruokavalioittain.

Ohuita naarmuja on eniten L-ruokavaliossa ja Tuhka5%+L-ruokavaliossa ja leveitä naarmuja Tuhka5%-ruokavaliossa sekä Tuhka10%+L-ruokavaliossa (Kuva 23.). Pieniä kuoppia on puolestaan eniten Tuhka5%+L-ruokavaliossa ja suuria kuoppia Tuhka5%-ruokavaliossa. Ohuita naarmuja on puolestaan vähiten Tuhka5%-ruokavaliossa. Tämä kuulostaa luonnolliselta, sillä ohuet naarmut ovat vallitsevia sinimailasta sisältävissä ruokavalioissa, lukuun ottamatta ruokavaliota, jossa tuhkan määrää on lisätty. Tällöin puolestaan leveitä naarmuja on eniten ja suuria kuoppia enemmän kuin pieniä kuoppia.



Kuva 25. Ohuiden ja leveiden naarmujen prosenttiosuudet ruokavalioittain.

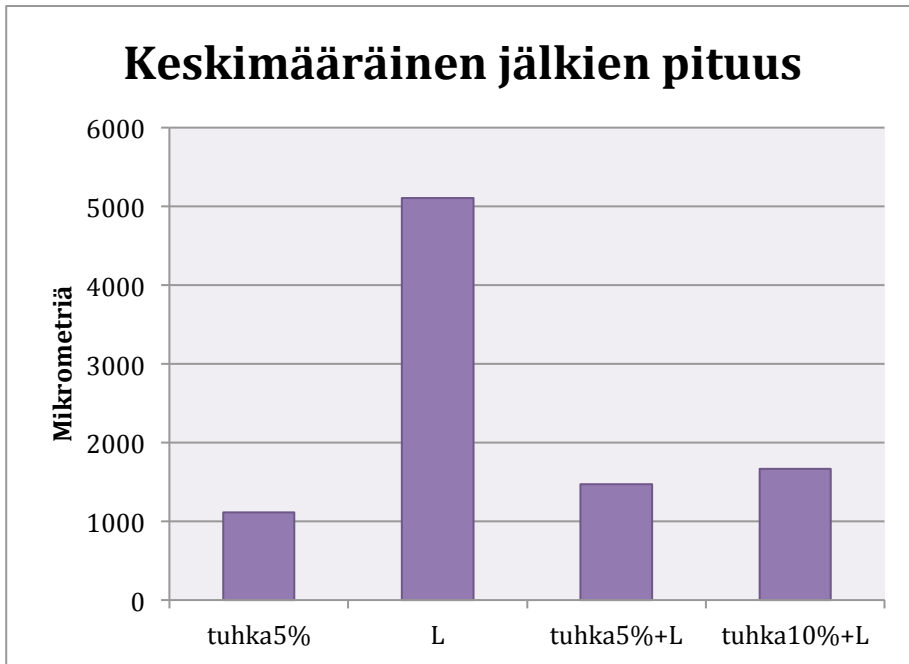
Prosentuaalisesti ohuita naarmuja on myös eniten L-, ja Tuhka5%+L-ruokavalioissa ja vähiten pelkkää tuhkaa sisältävässä ruokavaliossa (Kuva 25.). Leveitä naarmuja pelkästään tuhkaa sisältävässä ruokavaliossa on 70 prosenttia ja yli puolet Tuhka10%+L-ruokavaliossa. Leveitä naarmuja on puolestaan prosentuaalisesti vähän pelkästään sinimailasta sisältävässä ruokavaliossa sekä Tuhka5%+L-ruokavaliossa.



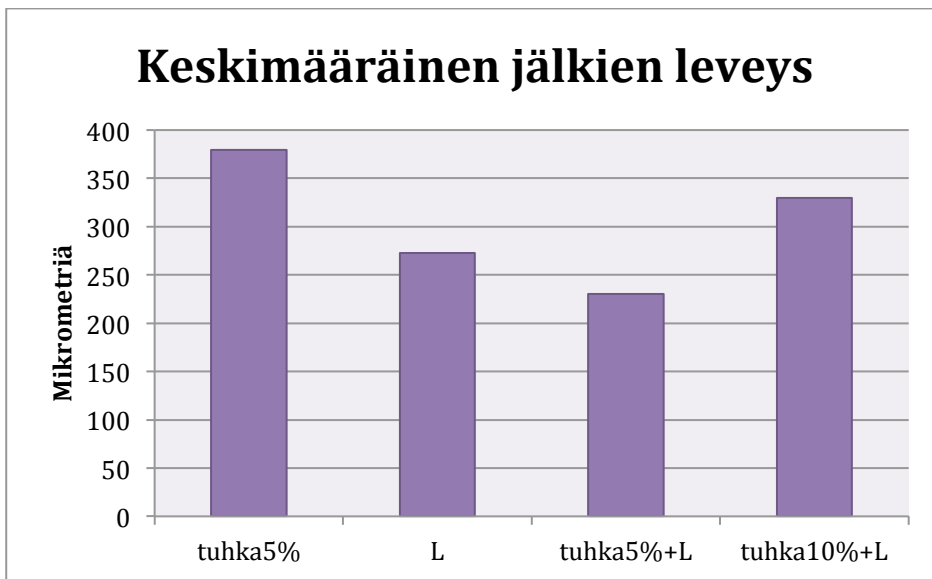
Kuva 26. Pienten, suurten ja erittäin suurten kuoppien prosenttiosuudet ruokavalioittain.

Myös prosentuaalisesti suuria kuoppia on eniten pelkkää tuhkaa sisältävässä ruokavaliossa ja vähiten Tuhka5%+L,- sekä L-ruokavalioissa (Kuva 26.). Erittäin suuria kuoppia on prosentuaalisesti vähän jokaisessa ruokavaliossa. Kuoppien kokoluokkien prosenttijakauma on hyvin tasainen L-ruokavaliossa ja Tuhka5%+L-ruokavaliossa.

Jos tarkastellaan keskimääräistä jälkien pituutta ja leveyttä (Kuvat 27 ja 28.), L-ruokavalion aiheuttamat jäljet ovat luonnollisesti pidempiä ja tuhkillisten ruokavalioiden jäljet lyhyempiä, koska sinimailanen aiheuttaa pääasiassa naarmuja ja tuhkilliset ruokavaliot kuoppia. Keskimääräisesti leveimmät jäljet aiheuttaa pelkästään tuhkaa sisältävä ruokavalio, joka myös aiheutti lähes 90 prosenttia kuoppia naarmujen ja kuoppien yhteismäärästä Tuhka5%-ruokavaliossa.



Kuva 27. Keskimääräinen jälkien pituus ruokavalioittain.



Kuva 28. Keskimääräinen jälkien leveys ruokavalioittain.

Taulukoissa 3-13 on yksisuuntaisen varianssianalyysin avulla (ANOVA) testattu onko kolmen eri ruokavalion tai kaikkien ruokavalioiden keskiarvojen välillä merkitseviä eroja. F-testitulos ja siihen liittyvä p-arvo kuvaavat ryhmien välisten erojen tilastollista merkitsevyyttä. P-arvon ollessa $<0,05$, erot kyseisten ryhmien välillä ovat tilastollisesti melkein merkitseviä, p-arvon ollessa $<0,01$, erot ovat tilastollisesti merkitseviä ja p-arvon ollessa $<0,001$, erot ovat tilastollisesti erittäin merkitseviä. Viimeisenä taulukossa oleva etan neliö kuvaa, kuinka paljon selitettävän muuttujan vaihtelusta pystytään selittämään selittävän muuttujan avulla. Arvo on nollan ja yhden välillä ja mitä suurempi arvo on, sitä merkitsevämpi on tulos. Esimerkiksi Taulukossa 3. etan neliö on saanut arvon 0,68 mikä tarkoittaa sitä että eri ruokavaliot selittävät jälkien yhteismäärien vaihtelut 68 prosenttisesti. Taulukoihin on merkitty myös keskiarvot, keskihajonnat ja näytemäärät. Jos taulukoissa on vertailtu eroja ainoastaan kahden eri ruokavalion välillä, on käytetty kaksisuuntaista t-testiä.

Taulukko 3. Jälkien kokonaismäärien keskiarvot (M), keskihajonnat (SD) ja näytemäärät (N), sekä p-arvo, F-testitulos ja etan neliö ruokavaliottain.

Ruokavalio:	M	SD	N
Tuhka5%	133	30	5
L	144,2	16,3	5
Tuhka5%+L	235,2	45,4	5
Tuhka10%+L	179,2	21,4	5
p-arvo	$< 0,001$		
F-testi	11,403		
etan neliö	0,68		

Taulukko 4. Summamuuttujien (jälkien pituudet kerrottuna leveydellä) keskiarvot (M), keskihajonnat (SD), näytemäärät (N), sekä p-arvo, F-testitulos ja etan neliö ruokavalioittain.

Ruokavalio	M	SD	N
Tuhka5%	148571	40048	5
L	606805	202273	5
Tuhka5%+L	202313	47688	5
Tuhka10%+L	237666	46343	5
p-arvo	<0,001		
F-testi	18,5		
etan neliö	0,78		

Taulukko 5. Kuoppien lukumäärien keskiarvot (M), keskihajonnat (SD) ja näytemäärät (N), sekä p-arvo, F-testitulos ja etan neliö ruokavalioittain.

Ruokavalio	M	SD	N
Tuhka5%	117,6	30,2	5
L	45,8	13,3	5
Tuhka5%+L	188,6	66,6	5
Tuhka10%+L	144,6	26,1	5
p-arvo	<0,001		
F-testi	11,6		
etan neliö	0,68		

Taulukko 6. Suurien kuoppien lukumäärien keskiarvot (M), keskihajonnat (SD) ja näytemäärät (N), sekä p-arvo, F-testitulos ja etan neliö ruokavalioittain.

Ruokavalio	M	SD	N
Tuhka5%	76,2	12,3	5
L	13,8	9,7	5
Tuhka5%+L	54,6	17	5
Tuhka10%+L	75	18,1	5
p-arvo	<0,001		
F-testi	19,7		
etan neliö	0,79		

Taulukko 7. Suurien kuoppien keskiarvot (M), keskihajonnat (SD) ja näytemäärät (N) sekä p-arvo L,- ja Tuhka5%+L-ruokavalioissa.

Ruokavalio	M	SD	N
L	13,8	9,7	5
Tuhka5%+L	54,6	17	5
p-arvo	<0,01		

Taulukko 8. Suurien kuoppien keskiarvot (M), keskihajonnat (SD) ja Näytemäärät (N) sekä p-arvo L,- ja Tuhka10%+L-ruokavalioissa.

Ruokavalio	M	SD	N
L	13,8	9,7	5
Tuhka10%+L	75	18,1	5
p-arvo	<0,001		

Taulukko 9. Pienien kuoppien keskiarvot (M), keskihajonnat (SD) ja Näytemäärät (N) sekä p-arvo, F-testitulos ja etan neliö ruokavalioittain.

Ruokavalio	M	SD	N
Tuhka5%	33	19,5	5
L	30,8	13,4	5
Tuhka5%+L	130,6	58,4	5
Tuhka10%+L	59,8	11,1	5
p-arvo	<0,001		
F-testi	10,6		
etan neliö	0,67		

Taulukko 10. Pienien kuoppien keskiarvot (M), keskihajonnat (SD) ja näytemäärät (N), sekä p-arvo, F-testitulos ja etan neliö tuhkallisissa ruokavalioissa.

Ruokavalio	M	SD	N
Tuhka5%	33	19,5	5
Tuhka5%+L	130,6	58,4	5
Tuhka10%+L	59,8	11,1	5
p-arvo	<0,01		
F-testi	9,8		
etan neliö	0,62		

Taulukko 11. Ohuiden naarmujen keskiarvot (M), keskihajonnat (SD) ja näytemäärät (N), sekä p-arvo, F-testitulos ja etan neliö tuhkaallissa ruokavalioissa.

Ruokavalio	M	SD	N
Tuhka5%	4,8	2,4	5
Tuhka5%+L	36,2	20,5	5
Tuhka10%+L	15	7	5
p-arvo	<0,01		
F-testi	8,1		
etan neliö	0,56		

Taulukko 12. Ohuiden naarmujen keskiarvot (M), keskihajonnat (SD) ja Näytemäärät sekä p-arvo Tuhka5%,- ja Tuhka10%+L-ruokavalioissa.

Ruokavalio	M	SD	N
Tuhka5%	4,8	2,4	5
Tuhka10%+L	15	7	5
p-arvo	<0,05		

Taulukko 13. Ohuiden naarmujen keskiarvot (M), keskihajonnat (SD) ja näytemäärät (N) sekä p-arvo Tuhka5%,- ja Tuhka5%+L-ruokavalioissa.

Ruokavalio	M	SD	N
Tuhka5%	4,8	2,4	5
Tuhka5%+L	36,2	20,5	5
p-arvo	<0,01		

6. TULOSTEN TARKASTELU

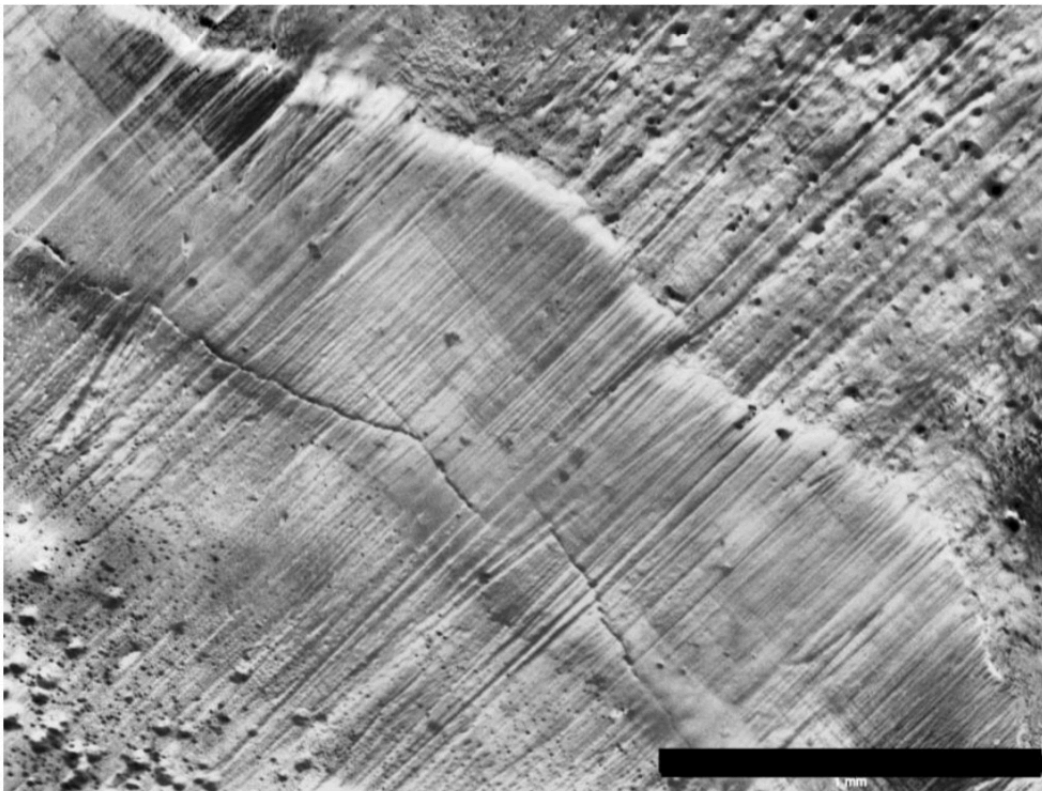
Aikaisemmissa hampaiden mikrokulumistutkimuksissa on yleisesti ottaen saatu tuloksia, joiden mukaan fytoliitteja sisältävä heinä aiheuttaa hampaan kiilteeseen naarmuja ja lehtevä kasvillisuus, ulkoinen mineraaliaines sekä attritio eniten kuoppia (esim. Walker et al., 1978 & Solounias et al., 2002). Rannikon pro gradussa lehtevän kasvillisuuden edustajana käytettiin sinimailasta pellettimuodossa ja olen tässä pro gradussa hyödyntänyt hänen tuloksiaan ja vertaillut sinimailasruokavalion aiheuttamaa kulutusta vulkaanisen tuhkan aiheuttamaan kulutukseen. Samanlainen koe tehtiin käyttämällä samaa mekaanista purulaitetta ja koska vulkaaninen tuhka otettiin mukaan vertailuun, on tässä gradussa myös pohdittu enemmän tuhkan merkitystä hypsodontian evoluutioon. Koska näytemäärät ovat pieniä ja puruliikkeiden määrä (n. 100 000) hammasparia kohden vastaa ainoastaan noin seitsemää päivää hevosen elämässä (Karme et al., 2016), ovat tulokset viitteellisiä eikä niistä voida tehdä suurempia päätelmiä ilman kattavampia jatkotutkimuksia.

L-ruokavalio, jonka olisi tarkoitus vastata vähän fytoliitteja sisältävää, lehtevää kasvillisuutta on aiheuttanut hampaan kiilteeseen enimmäkseen ohuita naarmuja ja pieniä kuoppia (Kuva 9.), naarmuja selkeästi enemmän kuin kuoppia. Yleisesti ottaen lehtevän kasvillisuuden oletetaan aiheuttavan hampaaseen kuoppaista kulumisjälkeä (esim. Solounias et al., 2002) ja syy naarmuiseen jälkeen tässä kokeessa on todennäköisesti ruokaseoksessa, joka on valmistettu pelleteistä ja sekoitettu homogeeniseksi seokseksi, jolloin se ei vastaa luonnollista ruokavaliota (Rannikko 2014). Ruokamassan ollessa tasaista ja okklusion osuessa siihen jatkuvasti, myöskään attrition vaikutus ei todennäköisesti näy luonnollisella tavalla. Toisaalta Boisserie et al. (2005) ovat tutkineet virtahepojen hampaan kiilteen mikroskooppista kulumista ja tulleet siihen tulokseen, että vähän fytoliitteja sisältävä, pehmeä ruohokasvillisuus on aiheuttanut virtahepojen hampaan kiilteeseen paljon ohuita naarmuja ja pieniä kuoppia. Tässä pro gradussa naarmuja saattaa myös aiheuttaa pelletin ravintoaineet, kuten hapon avulla eroteltu kuitu, ligniini ja liukenematon tuhka (Taulukko1.).

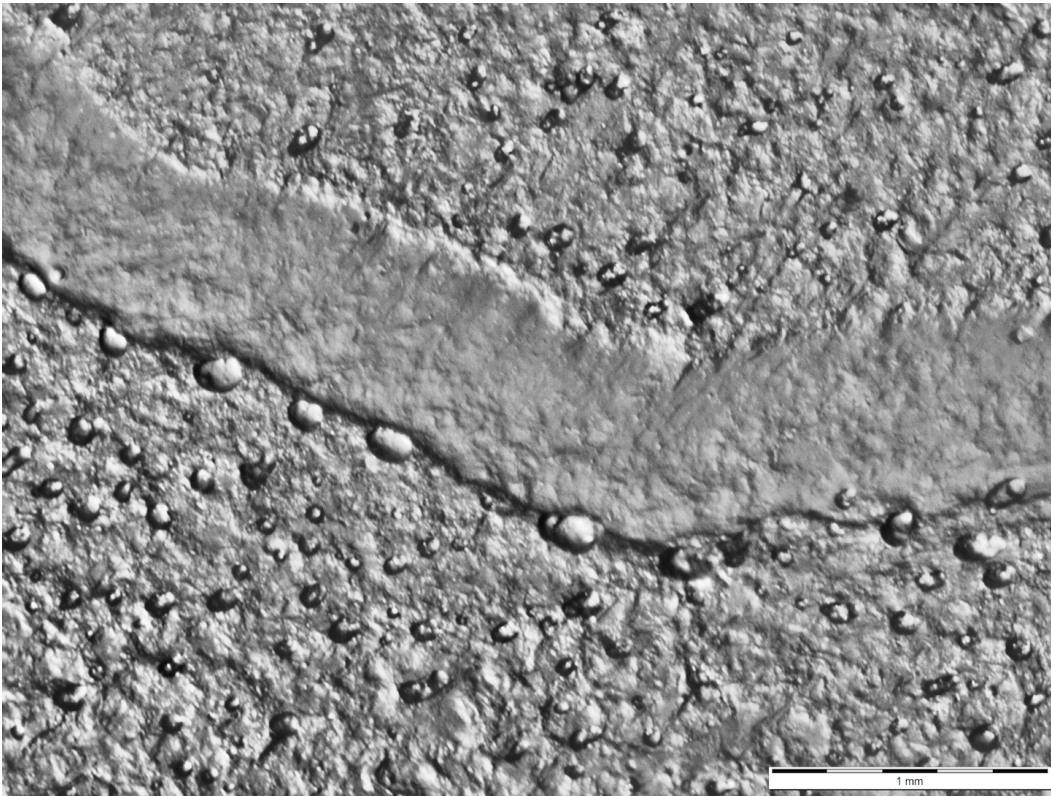
Ruokavalio, jossa oli veden lisäksi pelkästään raekooltaan siltin kokoista (0,002mm-0,063mm) vulkaanista tuhkaa, aiheutti hampaan kiilteeseen suurimmaksi osaksi kuoppia

(n.90%). Eniten oli suuria kuoppia ja jälkien keskimääräinen leveys oli myös suurin kaikkien ruokavalioiden kesken. Rannikon tutkimuksessa suuria kuoppia oli myös paljon hampaissa, jotka pureskelivat pelkästään attritiossa. Todennäköisesti sekä attritio, että tuhka aiheuttavat kuoppaista mikrokulumaa. Tuhka aiheutti hampaaseen myös silmämääräisesti voimakasta kulutusta ja kulutusjälki oli karkeampi kuin kasvipellettiä sisältävissä ruokavalioissa. Syy tähän on todennäköisesti se, että sinimailasta sisältävissä ruokavalioissa kasvipelletin selluloosa ja ligniini pehmentävät tuhkan vaikutusta ja synnyttävät hampaaseen jatkuvan abraasion seurauksena kiillotetun pinnan (Walker et al, 1978). Tässä koeasetelmassa kyseisen ruokavalion tarkoitus oli näyttää, minkälaista mikrokulumiskuviota tuhka kiilteeseen aiheuttaa ja kuinka voimakasta kuluminen on ilman kasviaineksen vaikutusta. Luonnollisissa olosuhteissa tällainen ruokavalio olisi erittäin epätodennäköinen.

Kuvissa 29. ja 30. näkyy selvä ero L-ruokavalion ja Tuhka5%-ruokavalion välillä. Kuvassa 29. näkyy selkeästi naarmuinen vaikutus ja Kuvassa 30. puolestaan kuoppainen vaikutus.



Kuva 29. Mikroskooppikuva hampaan kiillennauhasta, jossa kuluttavana ainesosana on sinimailanen. (Kuva: Janina Rannikko)

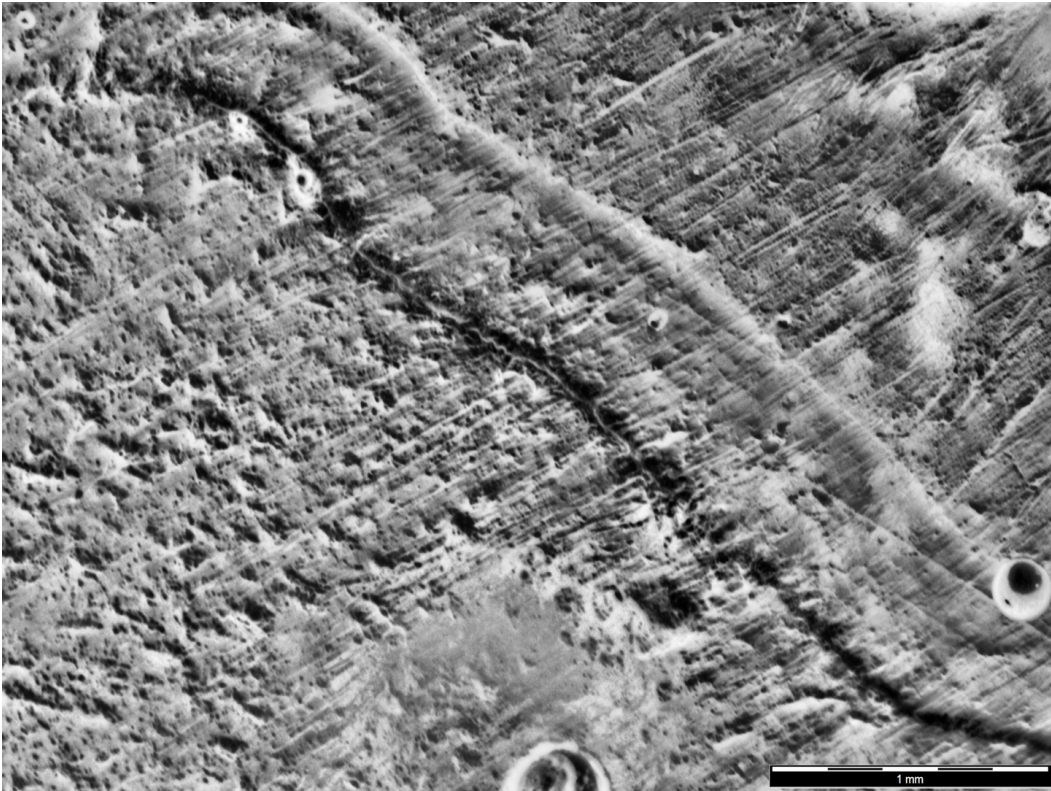


Kuva 30. Mikroskooppikuva hampaan kiillenauhasta, jossa kuluttavana ainesosana on vulkaaninen tuhka. (Kuva: Milena Hauhia)

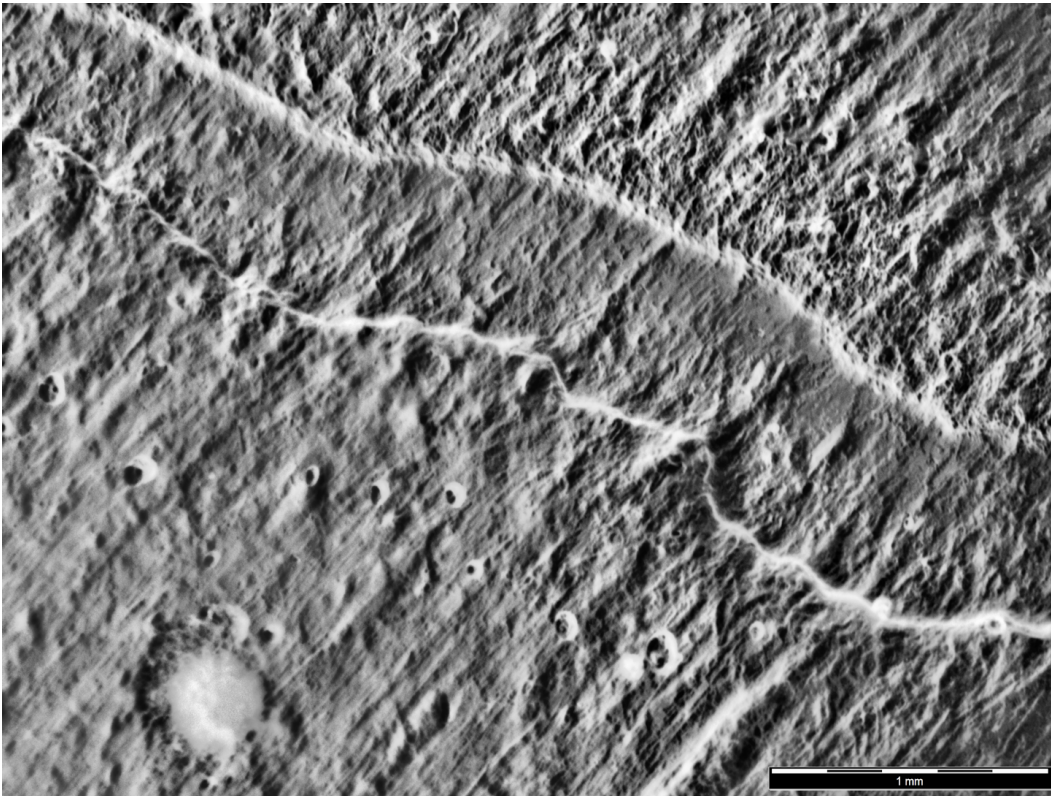
Kun Tuhka5%-ruokavalioon lisätään sinimailanen, jälkien kokonaismäärä kasvaa huomattavasti (Kuva 13.). Tämä johtune siitä, että kuluttavia ainesosia on nyt kaksi. Naarmujen sekä kuoppien lukumäärät kasvavat huomattavasti (Kuva 11), mutta prosentuaalisesti L-ruokavalion ja Tuhka5%+L-ruokavalion naarmujen ja kuoppien osuudet pysyvät melko tasaisina (Kuva 12.). Pienien kuoppien prosenttiosuus kaikista kuopista molemmissa ruokavalioissa on lähes 70 prosenttia (Kuva 26.) ja suurien kuoppien noin 30 prosenttia. Pelkästään tuhkaa sisältävässä ruokavaliossa suurien kuoppien prosenttiosuus oli noin 65 prosenttia, mutta kuten edellä on mainittu, tähän on todennäköisesti vaikuttanut myös attritio. Sinimailasta sisältävissä ruokavalioissa homogeeninen seos on ollut jatkuvasti okkluusion välissä, joten attrition vaikutus on jäänyt pienemmäksi ja suuria kuoppia on vähemmän. Se, että Tuhka10%+L-ruokavalion seurauksena suuria kuoppia on syntynyt noin 52 prosenttia kuoppien kokonaismäärästä kertoo kuitenkin siitä, että lisätty tuhkan määrä on tässä tapauksessa ollut niiden merkittävin aiheuttaja, koska attrition vaikutus on ollut vähäistä. Toisin sanoen, kun tuhkan määrää sinimailasseoksessa lisätään, suuret kuopat muuttuvat vallitseviksi kun puolestaan L-ruokavaliossa ja Tuhka5%+L-ruokavaliossa pienet kuopat vallitsevat. Tämän perusteella voisi päätellä, että kasvipelletti aiheuttaa hampaan kiilteeseen paljon pieniä jälkiä, kuten ohuita naarmuja sekä pieniä kuoppia ja tuhka

puolestaan suuria kuoppia ja leveitä naarmuja ja kun tuhkan määrää seoksessa lisätään sen aiheuttamat jäljet muuttuvat vallitseviksi.

Kuvasta 31. näkyy muutos kun 5 prosenttia tuhkaa sisältävään seokseen lisätään sinimailaspelletti. Ohuiden naarmujen ja pienien kuoppien määrä kasvaa. Kuvasta 32. puolestaan näkyy ohuiden naarmujen väheneminen ja suurien kuoppien lisääntyminen kun sinimailasseokseen on lisätty tuhkaa 10 prosenttia.



Kuva 31. Mikroskooppikuva hampaan kiillenauhasta, jossa kuluttavana ainesosana sinimailanen ja 5% vulkaanista tuhkaa. (Kuva: Milena Hauhia)



Kuva 32. Mikroskooppikuva hampaan kiillenauhasta, jossa kuluttavana ainesosana on sinimailanen ja 10% vulkaanista tuhkaa. (Kuva: Milena Hauhia)

1. Aiheuttaako vulkaaninen tuhka hampaan kiilteen kulumista?

Tämän kokeen perusteella siltin kokoinen vulkaaninen tuhka aiheuttaa hampaan kiilteeseen mikrokulumiskuvioita ja myös paljaalla silmällä havaittavaa kulumista. Jo vuonna 1965 W.B. Healy epäili lampaiden ulostetutkimuksensa perusteella, että pölyllä ja muulla ulkoisella mineraaliaineksella saattaisi olla jopa fytoliitteja suurempi merkitys hampaiden kiilteen kulumisessa. Hoffman et al. (2015) saivat samanlaisia tuloksia kokeessaan, jossa he testasivat hampaiden kiilteen kulumista vuohilla syöttämällä niille ruuan seassa erikokoisia hiekkapartikkeleita. Suuremmat partikkelit hajosivat helpommin pureskelun yhteydessä aiheuttaen pienempien ja terävämpien partikkeleiden syntymistä ja edelleen enemmän mikrokulumiskuvioita. Tämän perusteella voisi päätellä, että siltin kokoiset partikkelit vastustavat paremmin pureskelun yhteydessä rikkoutumista ja aiheuttavat vähemmän kulumista kuin suuremmat hiekkapartikkelit. Lucas et al. (2013) puolestaan vertailivat kasvien fytoliittien ja pölyn aiheuttamaa orankien hampaiden kiilteen kulumista ja tulivat siihen tulokseen, että ainoastaan kvartsipöly aiheuttaa kiilteeseen varsinaista aineellista menetystä, toisin kuin fytoliitit, jotka jättävät kiilteeseen jälkiä, mutta eivät varsinaisesti johda

kulutukseen. Tässä pro gradussa käytetty vulkaaninen tuhka oli noin 76 prosenttisesti piidioksidia eli kvartsia, joten sitä voisi karkeasti verrata Lucasin käyttämään kvartsipölyyn. Wronski & Schulz-Kornas (2014) tutkivat erään Saudi-Arabiassa elävän antilooppilajin ruokailutottumuksia hampaiden kulumisen perusteella ja saamiensa tuloksien mukaan kyseisen lajin hampaita kuluttaa lehtevän kasvillisuuden ja hedelmien lisäksi alueelle ominainen runsas aavikkopöly.

Madden et al. (2013) ovat tutkineet Etelä-Amerikan Patagonian kasvinsyöjänisäkkäiden hypsodontiaa muun muassa fossiilisten fytoliittien avulla. Heidän tutkimustulostensa mukaan kasvien fytoliittien kuluttava vaikutus ei ajallisesti korreloisi hypsodontian kehittymisen kanssa vaan merkittävämpi tekijä olisi maanpinnan prosessien avulla sedimenteistä vapautuva vulkaaninen tuhka sekä vulkanismin aiheuttama tuhkan leviäminen kasvinsyöjien elinympäristöön.

2. Minkälaista mikrokulumiskuviota vulkaaninen tuhka hampaan kiilteeseen aiheuttaa?

Tässä pro gradussa vulkaaninen tuhka on synnyttänyt hampaan kiilteeseen kuoppaista mikrokulumiskuviota. Seos, jossa on ollut veden lisäksi pelkkää tuhkaa ilman kasviainesta, on synnyttänyt eniten suuria kuoppia ja toiseksi eniten pieniä kuoppia. Karme et al. (2016) ovat samalla purulaitteella tehdyssä tutkimuksessaan saaneet tuloksia, joiden mukaan attritio aiheuttaa kiilteeseen paljon suuria kuoppia, joten todennäköisesti tässäkin tutkimuksessa attritiolla on ollut vaikutusta kuoppien syntyyn. Toisaalta ruokavalio, jossa on sinimailasen lisäksi 10 prosenttia tuhkaa on myös synnyttänyt paljon suuria kuoppia, joten ottaen huomioon attrition vähäisen vaikutuksen, voisi olettaa, että vulkaanisella tuhkalla saattaisi olla merkittävä vaikutus suurienkin kuoppien syntyyn. Semprebon et al. (2019) tutkivat Pohjois-Amerikan kaviokyntisten hypsodontian evoluutiota muun muassa hampaiden mikrokulumiskuvioiden avulla. He havaitsivat paljon suuria kuoppia sekä heinää syövien, että lehtevän kasvillisuuden syöjien hampaista ja tulivat siihen tulokseen, että ulkoisella mineraaliaineksella olisi merkittävä vaikutus kuoppaisen mikrokulumiskuvion syntymiseen ja edelleen hypsodontian kehittymiseen.

Pelkkää tuhkaa sisältävä ruokavalio on aiheuttanut kiilteeseen myös naarmuja. Tämä johtuu todennäköisesti siitä, että tuhkapartikkelit naarmuttavat hampaan pintaa okkluusiossa, jossa

alahammas liukuu ylähammasta vasten jatkuvassa liikkeessä. Naarmuja saattaa syntyä myös tuhkapartikkelien rikkoutuessa pienemmiksi palasiksi synnyttäen partikkeleihin teräviä kulmia, jotka viiltävät kiilteen pintaa (Hoffman et al., 20015). Tämän lisäksi myös attritio saattaa naarmuttaa hampaan kiillettä.

3. Vaikuttaako ruokavaliossa olevan vulkaanisen tuhkan määrän lisääminen mikroskooppiseen kulumisjälkeen?

Tuhka5%+L-ruokavaliossa ja Tuhka10%+L-ruokavaliossa on prosentuaalisesti lähes sama määrä kuoppia ja naarmuja, kuoppia noin 80 prosenttia ja naarmuja noin 20 prosenttia. Jälkien kokonaismäärä on suurempi Tuhka5%+L-ruokavaliossa. Tähän syynä saattaa olla se, että pienempi määrä tuhkaa ei häivytä kulutuksellaan yhtä paljon sinimailasen synnyttämiä jälkiä kuin suurempi määrä tuhkaa. Toinen vaihtoehto saattaa olla kokeessa tapahtunut virhe tai anomalia yhden näytteen kohdalla Tuhka5%+L-ruokavaliossa (Kuvat 14, 16 ja 17).

Tuhka5%+L-ruokavaliossa vallitsevia jälkiä ovat pienet kuopat ja ohuet naarmut kun puolestaan Tuhka10%+L-ruokavaliossa vallitsee suuret kuopat ja leveät naarmut (Kuvat 25 ja 26). Tuhkan eri määrät vaikuttavat siis mikrokulumiskuvioon tässä kokeessa, mutta näyttemäärää suurentamalla ja koeasetelmaa standardisoimalla saataisiin luotettavampia tuloksia.

4. Voisiko vulkaanisella tuhalla olla evolutiivista merkitystä hypsodontian kehittymisessä?

Schulz-Kornas et al. (2019) ovat tehneet tutkimuksen Norsunluurannikon simpansseilla testaten ulkoisen mineraaliaineksen määrää niiden ulosteista. Simpanssit syövät muun muassa puiden lehtiä ja hedelmiä, joiden pinnoille laskeutuu hienoa mineraaliainesta ilmakehän virtausten mukana, kuivana kautena enemmän kuin sadekautena. Tulosten perusteella simpanssit söivät kuivan kauden aikana ruuan mukana paljon ulkoista mineraaliainesta, joka aiheutti hampaisiin paljon myös kulumisjälkiä. Tutkijoiden mukaan on todennäköistä, että kasvinsyöjien ruuan mukana suuhun joutuva ulkoinen mineraaliaines vaikuttaa maailmanlaajuisesti evolutiiviseen kelpoisuuteen. Tämän perusteella voidaan myös olettaa, että vulkaaninen tuhka ulkoisena mineraaliaineksena vaikuttaa kasvinsyöjänisäkkäiden hypsodontian kehittymiseen luonnonvalinnan seurauksena.

Richard H. Madden on tutkinut paljon voimakkaan vulkanismin vaikutuksen alaisena olleiden ympäristöjen kasvinsyöjänisäkkäitä ja on sitä mieltä, että sekä sedimenteistä eroosion seurauksena vapautuva tuhka, että tulivuorenpurkauksista leviävä tuhka aiheuttaa evolutiivista painetta populaatioihin ja luonnonvalinnan kautta adaptaatiota muuttuviin ympäristöihin. Hampaiden rakenteelliset muutokset ovat yksi tärkeimmistä luonnonvalinnan kautta tapahtuneista evoluutiovoimista, jotka vaikuttavat positiivisesti eläinten elinikään.

Oman tutkimukseni perusteella vulkaaninen tuhka kuluttaa hampaan kiillettä. Se aiheuttaa mikrokulumiskuvioita ilman kasvipellettiä ja sen yhteydessä. Kattavampien jatkotutkimuksien avulla olisi mahdollista valottaa hypsodontiaan liittyviä suuremman mittakaavan evolutiivisia kysymyksiä.

7. JOHTOPÄÄTÖKSET

Tämän pro gradun tavoitteena oli tutkia miten vulkaaninen tuhka vaikuttaa hampaan kiilteen mikroskooppiseen kulumiseen. Tutkimus tehtiin mekaanisen purulaitteen avulla, johon asennetut hevosen hampaat jauhoivat neljässä eri ruokavalioseoksessa noin 100 000 kertaa yhtä hammasparia kohden. Jokaista ruokavaliota varten oli yhteensä viisi hammasparia. Ensimmäinen ruokavalioista sisälsi veden lisäksi pelkästään vulkaanista tuhkaa, toinen pelkästään sinimailasta ja kolmas sekä neljäs molempia. Jauhamisen jälkeen hampaiden okkluusiopinnoista analysoitiin ruokavalioiden jättämät mikrokulumisjäljet. Pelkästään vulkaanista tuhkaa sisältävä ruokavalio aiheutti hampaan kiilteeseen suurimmaksi osaksi mikroskooppisia kuoppia, enemmän suuria kuoppia kuin pieniä kuoppia. Myös paljaalla silmällä tarkasteltuna tuhka synnytti okkluusiopintaan voimakasta kulumista.

Sinimailasruokavalion jättämät jäljet olivat suurimmaksi osaksi ohuita naarmuja ja pieniä kuoppia. Kyseisen ruokavalion oli tässä kokeessa tarkoitus vastata lehtevää kasvillisuutta, jonka oletettiin aiheuttavan pääosin kuoppaista kulumiskuviota, mutta koska sinimailanen oli tässä tapauksessa homegeeninen pellettiseos, tulos ei vastannut luonnossa tapahtuvaa kulumista.

Kun sinimailasruokavalioon lisättiin 5 prosenttia vulkaanista tuhkaa, naarmujen sijaan kuopat muuttuivat jälleen hallitseviksi jäljiksi. Kuoppia oli yli 80 prosenttia kaikista jäljistä ja

eniten pieniä kuoppia. Kun sinimailasseokseen lisättiin 10 prosenttia tuhkaa, prosentuaalisesti kuoppia syntyi suunnilleen saman verran kuin edellisessä ruokavaliossa, mutta suuria kuoppia oli enemmän kuin pieniä kuoppia. Olisin odottanut, että 10 prosenttia tuhkaa sisältävä ruokavalio olisi aiheuttanut hampaan kiilteeseen eniten jälkiä, mutta näin ei kuitenkaan tämän kokeen perusteella tapahtunut, vaan 5 prosenttia tuhkaa sisältävä ruokavalio synnytti lukumäärällisesti kaikista eniten kulumisjälkiä. Tosin Tuhka5%+L-ruokavaliossa oli jälkien suhteen hammasparien välillä suurta hajontaa ja on mahdollista, että purulaite on esimerkiksi ollut tehokkaampi ja puremaliike nopeampi yhden hammasparin kohdalla, jolloin kulumisjälkien lukumäärä olisi virheellisesti suurempi kuin muiden parien kohdalla. Jokin muukin anomalia on saattanut kohottaa syntyneiden kuoppien määrää kyseisessä ruokavaliossa. Näytemäärää tulisikin suurentaa ja mekaanista purulaitetta standardisoida, jotta voitaisiin saada luotettavampia tutkimustuloksia. Kokeen perusteella on kuitenkin selvää, että vulkaaninen tuhka aiheuttaa hampaan kiilteen kulumista. Edelleen tämän perusteella on mahdollista päätellä, että jos kasvinsyöjänisäkkäiden ruuan pinnalla on ulkoista mineraaliainesta, kuten tuhkaa, joutuessaan suuhun ja okkluusioon, se kuluttaa hampaita ja niiden kiillepintaa. Koska vulkanismi on ollut voimakasta kenotsooisella maailmankaudella muun muassa Etelä-Amerikassa, jossa monelle lajille on kehittynyt hypsodontiset hampaat, on hyvin mahdollista, että vulkaanisella tuhkalla on merkittävä rooli kasvinsyöjänisäkkäiden hypsodontian evoluutiossa.

8. KIITOKSET

Haluan kiittää Aleksis Karnea, Mikael Forteliusta, Janina Rannikkoa, Radoslaw Michallikia, Richard H. Maddenia, Heikki Suhosta sekä perhettäni ja ystäviäni kaikesta avusta ja kannustuksesta.

9. LÄHDELUETTELO

Ayar, A., Rimaaja, H. 2018. Bruksismi; tunnistaminen ja hoito. Opinnäytetyö/Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bertin, T., Karme, A., Fortelius, M. 2013. Experimental study of dental microwear using a mechanical masticator. Maisteriharjoittelu, Ecole Normale Supérieure de Lyon/ Helsingin yliopisto.

Billet, G., Blondel, C., de Muizon, C. 2009. Dental microwear analysis of notoungulates (Mammalia) from Salla (Late Oligocene, Bolivia) and discussion on their precocious hypsodonty. Elsevier, Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 274, 114-124.

Boisserie, J-R., Zazzo, A., Merceron, G., Blondel, C., Vignaud, P., Likius, A., Mackaye, H.T., Brunet, M. 2005. Diets of modern and late Miocene hippopotamids: evidence from carbon isotope composition and micro-wear of tooth enamel. Elsevier, Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 221, 153-174.

Cassini, G.H., Del Pino, S.H., Muñoz, N.A., Acosta, M.V.W.G., Fernández, M., Bargo, M.S., Vizcaíno. Teeth complexity, hypsodonty and body mass in Santacrucian (Early Miocene) notoungulates (Mammalia). Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh, 106, 303-313.

Damuth, J., Janis, C.M. 2011. On the relationship between hypsodonty and feeding ecology in ungulate mammals and its utility in palaeoecology. Biological Reviews, 86, 733-758.

Dunn, R.E., Strömberg, C.A.E., Madden, R.H., Kohn, M.J., Carlini, A.A. 2015. Linked canopy, climate, and faunal change in the Cenozoic of Patagonia. Science, VOL 347, 258-261.

Flueck, W.T., Smith-Flueck, J.M. Severe dental fluorosis in juvenile deer linked to a recent volcanic eruption in Patagonia. Journal of Wildlife Diseases, VOL 49, 355-366.

Fortelius, M. 1985. Ungulate cheek teeth: developmental, functional, and evolutionary interrelations. Acta Zool. Fennica 180:1-76.

Fortelius, M., Solounias, N. 2000. Functional characterization of ungulate molars using the abrasion-attrition wear gradient: A new method for reconstructing palaeodiets. Novitates, 3301, 1-36.

Geissler, E., Daegling, D.J., McGraw, W.S. 2018. Forest floor leaf cover as a barrier for dust accumulation in Tai National Park: implications for primate dental wear studies. International Journal of Primatology, 39, 633-645.

Healy, W.B., Ludwig, T.G. 1965. Ingestion of soil by sheep in New Zealand in relation to wear of teeth. *Nature*, VOL 208, No. 5012, 806-807.

Higgins, D., Austin, J.J. Nucleid acid sample preparation from teeth/dental remains. Springer Protocols Handbooks. (Sivulla 6: hammaskuva)

Hillson, S. 2005. Teeth. New York: Cambridge University Press.

Hoffman, J.M. 2013. Microwear analysis of ungulates from the ashfall fossil beds: effects of volcanic ash on microwear. The geological society of America, paper No.13.

Hoffman, J.M., Fraser, D., Clementz, M.T. 2015. Controlled feeding trials with ungulates: a new application of *in vivo* dental molding to assess the abrasive factors of microwear. The Company of Biologists Ltd/ The Journal of Experimental Biology, 218, 1538-1547.

Hummel, J., Findeisen, E., Südekum, K.H., Ruf, I., Kaiser, T.M., Bucher, M., Clauss, M., Codron, D. 2010. Another one bites the dust: faecal silica levels in large herbivores correlate with high-crowned teeth. *Proceedings of the Royal Society*, 278, 1742-1747.

Janis, C.M. 1988. An estimation of tooth volume and hypsodonty indices in ungulate mammals and correlation of these factors with dietary preference. *Memoires du Museum National d'Histoire Naturelle*, VOL 53, 367-387.

Jardine, P.E., Janis, C.M., Sahney S., Benton M.J., 2012. Grit not grass: Concordant patterns of early origin of hypsodonty in Great Plains ungulates and Glires. *Elsevier/Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 365-366, 1-10.

Jernvall, J., Eronen, J. 2009. Hampaiden evoluutio. *Duodecim*, 125:2017-22.

Jernvall, J., Fortelius, M. 2002. Common mammals drive the evolutionary increase of hypsodonty in the Neogene. *Nature/VOL 417/538-540.*

Karme, A., Rannikko, J., Kallonen, A., Clauss, M., Fortelius, M. 2016. Mechanical modeling of tooth wear. *The Royal Society of Publishing, Interface* 13:20160399.

Kay, R.F., Madden, R.H., Vucetich, M.G., Carlini, A.A., Mazzoni, M.M., Re, G.H., Heizler, M., Sandeman H. 1999. Revised geochronology of the Casamayoran South American land mammal age: climatic and biotic implications. *PNAS*, VOL 96, 23, 13235-13240.

Koenigswald, W., Goin, F., Pascual, R. 1999. Hypsodonty and enamel microstructure in the Paleocene gondwanatherian mammal *Sudamerica ameghinoi*. *Acta Palaeontologica* 44, 3, 263-300.

Lucas, P.W. 2004. Dental functional morphology: how teeth work. Cambridge University Press.

Madden, H.R. 2015. Hypsodonty in Mammals: evolution, geomorphology, and the role of earth surface processes. Cambridge University Press.

Merceron, G., Blondel, C., de Bonis, L., Koufos, D.G., Viriot, L. 2005. A new method of dental microwear analysis: application to extant primates and *Ouranopithecus macedoniensis* (Late Miocene of Greece). *PALAIOS*, 20 (6), 551-561.

Merceron, G., Costeur, L., Maridet, O., Ramdarshan, A., Göhlich, U.B. 2012. Multi-proxy approach detects heterogeneous habitats for primates during the Miocene climatic optimum in Central Europe. *Journal of Human Evolution*, 63, 150-161.

Mihlbachler, M.C., Beatty, B.L., Caldera-Siu, A., Chan, D., Lee, R. 2012. Error rates and observer bias in dental microwear analysis using light microscopy. *Palaeontologia Electronica*, Article Number:15.1.12A.

Mihlbachler, M.C., Rivals, F., Solounias, N., Sembrebon G.M. 2011. Dietary Change and Evolution of Horses in North America. *Science* VOL 331, 1178-1181.

Spradley, J.P., Glander K.E., Kay, R.F. 2016. Dust in the wind: How climate variables and volcanic dust affect rates of tooth wear in Central American howling monkeys. *American Journal of Physical Anthropology* 159: 210-222.

Strömberg, C.A.E., Dunn, R.E., Madden, R.H., Kohn, M.J., Carlini, A. 2013. Decoupling the spread of grasslands from the evolution of grazer-type herbivores in South America. *Nature Communications* 4:1478/DOI:10.1038/ncomms2508.

Walker, A., Hoeck, H.N., Perez, L. 1978. Microwear of mammalian teeth as an indicator of diet. *Science* VOL 201, 908-910.

Rannikko, J. 2014. Kokeellinen hampaiden kulumistutkimus-eri ruokavalioista aiheutuva kiilteen mikrokuluminen. Pro gradu, Helsingin yliopisto.

Raymo, M.E. and Ruddiman, W.F. 1992. Tectonic forcing of late Cenozoic climate. *Nature* 359, 117-122.

Schulz-Kornas, E., Stuhlträger, J., Clauss, M., Wittig, R.M., Kupczik, K. 2019. Dust affects chewing efficiency and tooth wear in forest dwelling Western chimpanzees (*Pan troglodytes verus*). *Wiley Periodicals, Inc, Am J Phys Anthropol.*, 169, 66-77.

Semprebon, G.M., Rivals, F., Janis, C.M. 2019. The role of grass vs. exogenous abrasives in the paleodietary patterns of North American ungulates. *Frontiers in Ecology and Evolution*, VOL 7, article 65, 1-23.

Solounias, N., Teaford, M., Walker, A. 1988. Interpreting the diet of extinct ruminants: the case of a non-browsing giraffid. *Paleobiology*, 14(3), 287-300.

Warneck, P. 1988. Chemistry of the natural atmosphere.

Wronski, T., Schulz-Kornas, E. 2014. The Farasan gazelle – a frugivorous browser in an arid environment? *Mammalian Biology*, 80, 87-95.

Žliobaitė, I., Rinne, J., Tóth, A.B., Mechenich, M., Liu, L., Behrensmeyer, A.K., Fortelius, M. 2016. Herbivore teeth predict climatic limits in Kenyan ecosystems. *PNAS*, VOL 113, no 45, 12751-12756.

LIITTEET:

Analysis of Variance (One-Way) Jälkien kokonaismäärä					
ANOVA					
Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value
Between Groups	3	31 445,35000	10 481,78333	11,40285	0,00030
Within Groups	16	14 707,60000	919,22500		
Total	19	46 152,95000			
Residual standard error	30,31872				
Hartley Fmax (d.f. = 4, 4)	7,77560				
Cochran C (d.f. = 4, 4)	0,55977				
Bartlett Chi-square (d.f. = 3)	4,21216	p-value	0,23945		

Analysis of Variance (One-Way)Summamuuttujat					
ANOVA					
Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value
Between Groups	3	6,52414E+11	2,17471E+11	18,53187	0,00002
Within Groups	16	1,87760E+11	1,17350E+10		
Total	19	8,40173E+11			
Residual standard error	108 328,13807				
Hartley Fmax (d.f. = 4, 4)	25,50965				
Cochran C (d.f. = 4, 4)	0,87163				
Bartlett Chi-square (d.f. = 3)	14,78460	p-value	0,00201		

Analysis of Variance (One-Way)Kuoppien lukumäärät					
ANOVA					
Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value
Between Groups	3	53 768,15000	17 922,71667	11,56565	0,00028
Within Groups	16	24 794,40000	1 549,65000		
Total	19	78 562,55000			
Residual standard error	39,36559				
Hartley Fmax (d.f. = 4, 4)	24,92572				
Cochran C (d.f. = 4, 4)	0,71456				
Bartlett Chi-square (d.f. = 3)	8,94822	p-value	0,02999		

T-testi/ Ohuet naarmut						
Descriptive Statistics						
VAR	N	Mean	Std Dev	Variance	Minimum	Maximum
Tuhka5% (1)	5	4,80000	2,38747	5,70000	1,00000	7,00000
Tuhka5%+L (2)	5	36,20000	20,48658	419,70000	17,00000	71,00000
Means Report						
VAR	Mean	95% LCL	95% UCL			
Tuhka5% (1)	4,80000	1,83557	7,76443			
Tuhka5%+L (2)	36,20000	10,76255	61,63745			
Mean Difference (1-2)	-31,40000	10,12969	52,67031			
t-test assuming equal variances (homoscedastic)						
Hypothesized Mean Difference	0,00000					
Mean Difference	-31,40000					
Pooled Variance	212,70000					
Test Statistic	3,40421					
Degrees of Freedom	8					
H1: Mu1 - Mu2 ≠ 0 / Not equal (two-tailed)						
t Critical Value (5%)	2,30600	p-value	0,00930	H1 (5%)	Accepted	
H1: Mu1 - Mu2 < 0 / Less than (lower-tailed)						
t Critical Value (5%)	-1,85955	p-value	0,99535	H1 (5%)	Rejected	
H1: Mu1 - Mu2 > 0 / Greater than (upper-tailed)						
t Critical Value (5%)	1,85955	p-value	0,00465	H1 (5%)	Accepted	

T-testi/Ohuet naarmut						
Descriptive Statistics						
VAR	N	Mean	Std Dev	Variance	Minimum	Maximum
Tuhka5% (1)	5	4,80000	2,38747	5,70000	1,00000	7,00000
Tuhka10%+L (2)	5	15,00000	6,96419	48,50000	8,00000	26,00000
Means Report						
VAR	Mean	95% LCL	95% UCL			
Tuhka5% (1)	4,80000	1,83557	7,76443			
Tuhka10%+L (2)	15,00000	6,35281	23,64719			
Mean Difference (1-2)	-10,20000	2,60768	17,79232			
t-test assuming equal variances (homoscedastic)						
Hypothesized Mean Difference	0,00000					
Mean Difference	-10,20000					
Pooled Variance	27,10000					
Test Statistic	3,09803					
Degrees of Freedom	8					
H1: Mu1 - Mu2 ≠ 0 / Not equal (two-tailed)						
t Critical Value (5%)	2,30600	p-value	0,01471	H1 (5%)	Accepted	
H1: Mu1 - Mu2 < 0 / Less than (lower-tailed)						
t Critical Value (5%)	-1,85955	p-value	0,99265	H1 (5%)	Rejected	
H1: Mu1 - Mu2 > 0 / Greater than (upper-tailed)						
t Critical Value (5%)	1,85955	p-value	0,00735	H1 (5%)	Accepted	

Analysis of Variance (One-Way)Ohuet naarmut					
ANOVA					
Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value
Between Groups	2	2 565,73333	1 282,86667	8,12112	0,00588
Within Groups	12	1 895,60000	157,96667		
Total	14	4 461,33333			
Residual standard error	12,56848				
Hartley Fmax (d.f. = 3, 4)	73,63158				
Cochran C (d.f. = 3, 4)	0,88563				
Bartlett Chi-square (d.f. = 2)	12,69438	p-value	0,00175		

T-testi/Suuret kuopat						
Descriptive Statistics						
VAR	N	Mean	Std Dev	Variance	Minimum	Maximum
L (1)	5	13,80000	9,73139	94,70000	6,00000	30,00000
Tuhka5%+L (2)	5	54,60000	17,00882	289,30000	40,00000	81,00000
Means Report						
VAR	Mean	95% LCL	95% UCL			
L (1)	13,80000	1,71688	25,88312			
Tuhka5%+L (2)	54,60000	33,48076	75,71924			
Mean Difference (1-2)	-40,80000	20,59119	61,00881			
t-test assuming equal variances (homoscedastic)						
Hypothesized Mean Difference	0,00000					
Mean Difference	-40,80000					
Pooled Variance	192,00000					
Test Statistic	4,65564					
Degrees of Freedom	8					
H1: Mu1 - Mu2 ≠ 0 / Not equal (two-tailed)						
t Critical Value (5%)	2,30600	p-value	0,00163	H1 (5%)	Accepted	
H1: Mu1 - Mu2 < 0 / Less than (lower-tailed)						
t Critical Value (5%)	-1,85955	p-value	0,99918	H1 (5%)	Rejected	
H1: Mu1 - Mu2 > 0 / Greater than (upper-tailed)						
t Critical Value (5%)	1,85955	p-value	0,00082	H1 (5%)	Accepted	

T-testi/Suuret kuopat						
Descriptive Statistics						
VAR	N	Mean	Std Dev	Variance	Minimum	Maximum
L (1)	5	13,80000	9,73139	94,70000	6,00000	30,00000
Tuhka10%+L (2)	5	75,00000	18,12457	328,50000	57,00000	96,00000
Means Report						
VAR	Mean	95% LCL	95% UCL			
L (1)	13,80000	1,71688	25,88312			
Tuhka10%+L (2)	75,00000	52,49538	97,50462			
Mean Difference (1-2)	-61,20000	39,98476	82,41524			
t-test assuming equal variances (homoscedastic)						
Hypothesized Mean Difference	0,00000					
Mean Difference	-61,20000					
Pooled Variance	211,60000					
Test Statistic	6,65217					
Degrees of Freedom	8					
H1: Mu1 - Mu2 ≠ 0 / Not equal (two-tailed)						
t Critical Value (5%)	2,30600	p-value	0,00016	H1 (5%)	Accepted	
H1: Mu1 - Mu2 < 0 / Less than (lower-tailed)						
t Critical Value (5%)	-1,85955	p-value	0,99992	H1 (5%)	Rejected	
H1: Mu1 - Mu2 > 0 / Greater than (upper-tailed)						
t Critical Value (5%)	1,85955	p-value	0,00008	H1 (5%)	Accepted	

Analysis of Variance (One-Way)Pienet kuopat					
ANOVA					
Source of Variation	d.f.	SS	MS	F	p-value
Between Groups	3	32 578,15000	10 859,38333	10,62900	0,00043
Within Groups	16	16 346,80000	1 021,67500		
Total	19	48 924,95000			
Residual standard error	31,96365				
Hartley Fmax (d.f. = 4, 4)	27,74898				
Cochran C (d.f. = 4, 4)	0,83314				
Bartlett Chi-square (d.f. = 3)	13,19262	p-value	0,00424		

Analysis of Variance (One-Way)Pienet kuopat					
ANOVA					
<i>Source of Variation</i>	<i>d.f.</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>
<i>Between Groups</i>	2	25 427,73333	12 713,86667	9,76487	0,00304
<i>Within Groups</i>	12	15 624,00000	1 302,00000		
<i>Total</i>	14	41 051,73333			
<i>Residual standard error</i>	36,08324				
<i>Hartley Fmax (d.f. = 3, 4)</i>	27,74898				
<i>Cochran C (d.f. = 3, 4)</i>	0,87168				
<i>Bartlett Chi-square (d.f. = 2)</i>	9,49156	<i>p-value</i>	0,00869		

Tiivistelmä

Kasvinsyöjänisäkkäiden hampaiden evoluutio on ollut paleoekologisen tutkimuksen kohteena jo vuosikymmenien ajan. Hypsodontia eli hammaskruunun piteneminen on yhdistetty globaaliin ilmaston viilenemiseen ja kuivumiseen kenotsooisien maailmankauden aikana. Ruohostomaiden vallatessa metsäalaa myös kasvinsyöjänisäkkäiden oli sopeuduttava erilaisiin ympäristöihin ja resurssien muutoksiin. Monet lajit muuttuivat lehtevän kasvillisuuden syöjistä matalamman heinäkavillisuuden syöjiksi. Lähempänä maata sijaitsevien kasvien pinnoilla oli myös puiden lehtiä enemmän ulkoista mineraaliainesta, kuten hiekkaa ja pölyä. Ruuan mukana suuhun ja okkluusioon joutuessaan ne kuluttivat voimakkaasti hampaita. Myös heinien sisäiset fytoliitit vaikuttivat hampaiden kulumiseen. Luonnonvalinnan seurauksena kasvinsyöjänisäkkäiden hammaskruunu alkoi pidentyä vastustaen ruokavalioista aiheutuvaa kulumista.

Ympäristöissä, joissa esiintyy voimakasta vulkanismia ja eroosiota, myös ilmateitse kasvien pinnoille laskeutuva, sekä sedimenteistä vapautuva tuhka todennäköisesti kuluttaa kasvinsyöjien hampaita. Yksi tällainen alue on Patagonia, Etelä-Amerikassa. Siellä monien lajien hampaat ovat kehittyneet hypsodonttisiksi ympäristön valintapaineiden seurauksena.

Tässä pro gradu-tutkielmassa tehtiin kokeellinen tutkimus mekaanisella purulaitteella, jonka avulla tutkittiin vulkaanisen tuhkan aiheuttamaa hampaan mikroskooppista kulumista.

Tulosten perusteella pohdittiin, aiheuttaako tuhka hampaan kovimman osan eli kiilteen kulumista ja jos aiheuttaa, minkälaista kulumiskuvio on. Lisäksi pohdittiin vulkaanisen tuhkan merkitystä hypsodontian evoluution kannalta.

Kokeellinen tutkimus tehtiin mekaanisella purulaitteella, johon asennettiin modernin hevosen (*Equus caballus*) hampaita. Hampaat jauhoivat laitteen avulla neljässä erilaisessa ruokavalioseoksessa aina yksi hammaspari kerrallaan. Ensimmäinen ruokavalioseos sisälsi veden lisäksi pelkkää vulkaanista tuhkaa, toinen lehtevää kasvillisuutta vastaavaa ruokapellettiseosta ja kolmas sekä neljäs kasvipelletin lisäksi vulkaanista tuhkaa eri määrit. Jauhamisen jälkeen hampaiden okkluusiopintojen mikroskooppiset kulumisjäljet analysoitiin. Tulosten mukaan tuhka aiheuttaa hampaan kiilteeseen pääosin kuoppaista kulumisjälkeä ja lehtevä kasvillisuus naarmuista kulumisjälkeä. Kasvipellettiä ja tuhkaa sisältävät ruokavalioseokset aiheuttivat eniten kulumisjälkiä.

Tämän pro gradu-tutkielman perusteella voi päätellä, että vulkaaninen tuhka kuluttaa hampaan kiillettä ja sillä on mahdollisesti ollut vaikutusta kasvinsyöjänisäkkäiden hypsodontian evoluutioon.

Abstract

The evolution of herbivore mammal teeth has been the subject of palaeoecological research for decades. Hypsodonty, high-crowned teeth, has been linked to global climate cooling and drying during the Cenozoic Era. As grasslands conquered forested areas, terrestrial herbivores had to adapt to different environments and resource changes. Many browsers adapted to more grazing habits. Low vegetation included more exogenous grit, such as dust and sand, which in the result of soil ingestion causes dental wear, as does the phytoliths found inside the coarse grasses. As a result of natural selection, the dental crowns of many herbivorous mammal teeth began to grow, resisting dietary wear.

Environments with high levels of volcanism and erosion the airborne ash that settles on plant surfaces and is released from sediments, is also likely to wear down herbivore teeth. One such area is Patagonia in South America. There, the teeth of many species have evolved to become hypsodont under the pressure of environmental stress. In this Master's thesis, an experimental study was conducted using a mechanical masticator to investigate microscopic tooth wear caused by volcanic ash. Based on the results, it was considered whether the ash causes the hardest part of the tooth, the enamel, to be worn and if so, what kind of wear pattern it produces. The relevance of volcanic ash for the evolution of hypsodonty was also discussed.

The experimental study was conducted with a mechanical masticator fitted with modern horse teeth that chewed in four different diet formulas, one tooth pair at a time. The first diet contained, in addition to water, nothing but volcanic ash, the second was a lucerne pellet mixture corresponding to browse and the third and fourth contained the plant pellet in addition to different amounts of volcanic ash. After chewing stage, the microscopic wear patterns of the tooth occlusion surfaces were analyzed. According to the results, the ash causes a pit dominated wear and the browse scratch dominated wear. The diet formulas with both, ash and plant pellet mixture, caused the most wear.

Based on this Master's thesis, it can be concluded that the volcanic ash causes tooth wear and may have influenced the evolution of hypsodonty.